



Universidade Federal do Ceará
Centro de Ciências
Programa de Pós-Graduação em Química

**Extração, caracterização e modificação química da pectina
do melão caipira (*Cucumis melo* var. *acidulus*)**

André Luiz Nascimento de Sousa

Fortaleza, 26 de novembro de 2015

ANDRÉ LUIZ NASCIMENTO DE SOUSA

TITULO

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Química.

Orientador: Nágila M. P. S. Ricardo

FORTALEZA

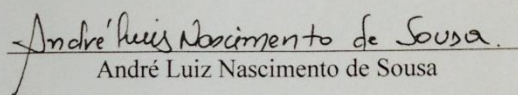
2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca de Ciências e Tecnologia

-
- S696e Sousa, André Luiz Nascimento de.
Extração, caracterização e modificação química da pectina do melão caipira (*Cucumis melo var acidulus*). / André Luiz Nascimento de Sousa. – 2016.
66 f. : il. color.
- Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, Programa de Pós-Graduação em Química, Fortaleza, 2016.
Área de Concentração: Química.
Orientação: Profa. Dra. Nágila Maria Pontes Silva Ricardo.
1. Melão. 2. Polímeros. 3. Química I. Título.

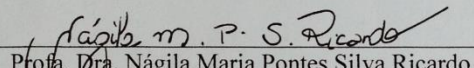
CDD 546

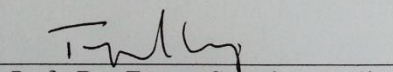
Esta dissertação foi aprovada como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Mestre em Química, área de concentração química, outorgada pela Universidade Federal do Ceará, em cuja Biblioteca de Ciências e Tecnologia/UFC encontra-se à disposição dos interessados.

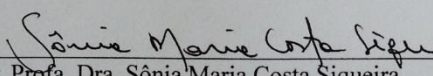

André Luiz Nascimento de Sousa

DISSERTAÇÃO APROVADA EM: 09/10/2015.

EXAMINADORES:


Prof.ª. Dra. Nágila Maria Pontes Silva Ricardo
Universidade Federal do Ceará – UFC


Prof.ª. Dra. Tamara Gonçalves Araújo
Universidade Federal do Ceará – UFC


Prof.ª. Dra. Sônia Maria Costa Siqueira
Universidade Estadual do Ceará – UECE

A Deus.

A minha esposa e meus filhos

AGRADECIMENTOS

A Deus, meu senhor, que nos momentos mais difíceis e angustiantes sempre esteve ao meu lado e a quem dedico toda minha vitória.

Aos meus pais (*In memoriam*), pela minha vida, apoio e exemplo.

A minha orientadora pela orientação, pelos ensinamentos, pela paciência e pelo grande exemplo de profissionalismo ético na Universidade Federal do Ceará.

A todos os meus professores da Universidade Federal do Ceará, do curso de Pós-Graduação em Química, pela contribuição ao meu aperfeiçoamento acadêmico.

À Arcelina, pelo entusiasmo constante em contribuir para o sucesso do meu trabalho.

Às professoras Sandra, Cristiane, Tamara e Eveline, pelas sugestões no Exame de qualificação.

Aos meus parentes e amigos pelo afeto e apreço.

A minha esposa Wilsa Maria Lopes Rodrigues, pelo companheirismo, paciência, dedicação e amor.

Aos meus filhos Rafael Lopes e Nayara Lopes pelo amor, compreensão e carinho.

Aos colegas e amigos da pós-graduação, em especial a Arcelina Pacheco Cunha, pela Co-orientação, amizade e dedicação aos estudos e Denilton Garcia Santos, que nunca mediu esforços para me ajudar a encontrar saídas em todos os momentos que precisei.

À Carol Barbosa, que tantas horas dedicou comigo nos processos de obtenção do material de pesquisa.

Ao amigo Rafael pela presteza em ajudar sempre, tanto nas análises de GPC como em todos os momentos que precisei.

A amiga Airta Cristina, por estar sempre disposta a ajudar nas apresentações, contribuindo com mais brilho para o trabalho.

A todos do grupo de polímero, professores e colegas, pelo companheirismo e os bons momentos em harmonia.

As funcionárias e amigas, Elis, Tereza, pelas análises, amizade e profissionalismo.

Aos funcionários Orlando e Célia, da Coordenação da Pós-Graduação em Química pelo pronto atendimento e serviços prestados com paciência e dedicação.

A equipe do Departamento de Engenharia de Alimentos na pessoa da Elaine e em especial à Dra. Leônia pelos esforços, paciência e apoio durante todo o curso.

RESUMO

Neste trabalho foi feita a extração de substâncias presentes no melão caipira (*Cucumis melo* var. *acidulus*) que tenham aplicação mais específica tanto na indústria alimentícia, quanto na indústria farmacêutica e cosmética, sendo, portanto, de maior valor comercial que os frutos *in natura*. O objetivo deste trabalho foi o de extrair, quantificar, caracterizar e modificar quimicamente por sulfatação a pectina do melão caipira (*Cucumis melo* var. *acidulus*). As extrações foram feitas em meio neutro, básico e ácido, apresentando rendimentos de 8%, 10,8% e 14%, respectivamente. Além da análise elementar da pectina extraída em meio ácido, esta foi caracterizada por Ressonância Magnética Nuclear do Carbono (RMN ^{13}C) e do Hidrogênio (RMN ^1H), Titulação Potenciométrica, espectroscopia na região do infravermelho (FT-IR), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Difração de Raios-x (DRX), Análise Termogravimétrica (TGA), Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC), Cromatografia de Permeação em Gel (GPC), Reologia e Potencial Zeta. Algumas dessas análises não foram realizadas para as amostras extraídas em meio básico, neutro e a ácida sulfatada, bem como, para a amostra de uso comercial, para as quais, as análises dependeram da finalidade a que se propunha, seja para determinar alguma característica específica do material como o Grau de Esterificação (GE), seja para identificar mudança geral na estrutura do polímero como a sulfatação. O RMN ^{13}C revelou picos característicos de ácido galacturônico. O FT-IR e a Titulação Potenciométrica permitiram o cálculo do Grau de Esterificação (GE) das amostras ácida, básica, neutra, sulfatada e também de uma amostra comercial da Sigma Aldrich; o resultado de GE das amostras, obtidos por essas técnicas, foram comparados entre si, mostrando que as amostras ácida e neutra são de baixo GE. O resultado de GE da amostra ácida também foi obtido por RMN ^1H , confirmando sua condição de baixo GE. O MEV da amostra ácida revelou partículas com estrutura esférica com achatamentos superficiais, típicos de secagem em *spray dried*, sugerindo potencial aplicação em encapsulação de fármacos. A DRX revelou que o material apresenta caráter amorfo, com aumento de cristalinidade após modificação química. A técnica de TGA revelou os estágios de degradação da pectina em três etapas. A curva de DSC apresentou um pico endotérmico em 150 °C e um exotérmico em 245 °C, relativos à perda de água e à principal etapa de degradação do material, respectivamente. A massa molecular da amostra ácida, determinada por GPC, apresentou valores típicos de materiais poliméricos $4,5 \times 10^5$ g/mol, condizentes com pectinas. O estudo reológico revelou a propriedade pseudoplástica da solução de pectina.

Palavras Chave: Melão caipira. Pectina. Sulfatação. Caracterização.

ABSTRACT

In this work the extraction of substances from the common melon (*Cucumis melo* var. *Acidulus*) was carried out, which has more specific application in both, the food industry, as in the pharmaceutical and cosmetic industry, becoming more valuable than the fruit in natura. The objective of this study was to extract, quantify, characterize and modify chemically by sulfation pectin the common melon (*Cucumis melo* var. *acidulus*). The extractions were performed in neutral, acidic and basic conditions, with yields of 8%, 10.8% and 14%, respectively. In addition to the Elementary Analysis, pectin extracted with acid, it was characterized by nuclear magnetic resonance of carbon (^{13}C NMR) and Hydrogen (^1H NMR), Potentiometric Titration, Spectroscopy in the Infrared (FT-IR), Scanning Electron Microscopy (SEM), X-Ray Diffraction (XRD), Thermogravimetric Analysis (TGA), Differential Scanning Calorimetry (DSC), Gel Permeation Chromatography (GPC), Rheology and Zeta Potential. Some of these analyzes were not performed for samples extracted in alkaline, neutral and sulfated acid, as well as for commercial use sample, for which the analysis depended on the purpose for which it was proposed, is it to determine a specific feature the material and the degree of esterification (DE) or to identify overall change in polymer structure such as sulfation. The ^{13}C -NMR showed peaks characteristic of galacturonic acid. The FT-IR and potentiometric titration permitted the calculation of the degree of esterification (DE) of acidic, basic, neutral and sulfated samples and also a commercial sample from Sigma Aldrich; GE results of the samples obtained by these techniques were compared, showing that the samples are acidic and neutral low GE. The result of GE acid sample was also obtained by ^1H NMR, confirming its low GE condition. The SEM of the sample showed particles with acidic spherical structure with surface flattening, typical drying spray dried, suggesting potential application in drug encapsulation. The XRD revealed that the material has amorphous character, an increase of crystallinity after chemical modification. The TGA technique revealed the pectin degradation in three stages. The DSC curve showed an endothermic peak at 150 °C and an exotherm at 245°C for the loss of water and the main step of breakdown of the material, respectively. The molecular weight of the acid sample, determined by GPC, showed values of typical polymeric materials 4.5×10^5 g/mol, consistent with pectins. The rheological study revealed the shear-thinning property of pectin solution.

Keywords: Common Melon. Pectin. Sulfation. Description.

SUMÁRIO

SUMÁRIO	9
1 INTRODUÇÃO	15
2 REVISÃO DA LITERATURA	18
2.1 Do ineditismo do estudo da espécie Cucumis melo var. acidulus	18
2.2 Constituição química do melão	19
2.3 Bioatividades relatadas para o melão	20
2.4 Pectinas	21
2.5 Grau de Esterificação (GE) de pectinas	23
3 OBJETIVOS	24
3.1 Objetivo geral	24
3.2 Objetivos específicos	24
4 MATERIAIS E MÉTODOS	25
4.1. Obtenção dos frutos e preparação da polpa para extração da pectina	25
4.2 Extração da pectina do Cucumis melo var. acidulus	25
4.3 Análise e caracterização da pectina do melão caipira	26
4.3.1 Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR)	26
4.3.2 Ressonância Magnética Nuclear (RMN-¹³C)	27
4.3.3 Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN-¹H)	27
4.3.4 Determinação do Grau de Esterificação (GE)	27
4.3.4.1 Determinação do GE por Titulação Potenciométrica	27
4.3.4.2 Determinação do GE por FT-IR	28
4.3.4.3 Determinação do GE por RMN-¹H da pectina do melão caipira extraída em meio ácido	29
4.3.5 Análise Termogravimétrica (TGA)	29
4.3.6 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) da pectina do melão	29
4.3.7 Dispersão de raios-x (DRX)	30
4.3.8 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	30
4.3.9 Cromatografia de permeação em gel (GPC)	30
4.3.10 Estudo reológico da pectina do melão caipira	31
4.3.11 Potencial Zeta da pectina do melão caipira	31

4.4 Modificação química da pectina obtida do melão caipira - Procedimento de Sulfatação	31
4.4.1 Análise elementar das amostras PCM-a e PCM-as	32
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
5.1 Extrações e rendimentos	34
5.2 Análise e caracterização da pectina do melão caipira	35
5.2.1 Análise do FT-IR da pectina do melão em diferentes condições de extração e sua comparação com a pectina cítrica de uso comercial (PC)	35
5.2.2 Análise do RMN-¹³C da pectina do melão caipira extraída em meio ácido	37
5.2.3 Análise do RMN-¹H da pectina do melão caipira extraída em meio ácido	38
5.2.4 Determinação do Grau de esterificação (GE) da pectina de melão caipira	40
5.2.4.1 Determinação do Grau de esterificação (GE) das pectinas de melão por FT-IR	41
5.2.4.2 Determinação do Grau de esterificação (GE) da pectina do melão caipira por titulação potenciométrica	43
5.2.4.3 Determinação do Grau de esterificação (GE) por RMN-¹H da pectina do melão caipira extraída em meio ácido	43
5.2.5 Análise Termogravimétrica (TGA)	45
5.2.6 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)	50
5.2.7 Análise de Dispersão de Raios-X	52
5.2.8 Análise morfológica da pectina do melão caipira	53
5.2.9 Cromatografia de Permeação em Gel (GPC)	54
5.2.10 Análise Reológica da pectina do melão	56
5.2.11 Potencial Zeta	57
5.3 Sulfatação da pectina	59
5.4 Análise elementar	61
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	62
REFERÊNCIAS	64
.....	68

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Fases de desenvolvimento do melão caipira: verde (1); de vez (2); maduro (3).....	19
Figura 2 - Representação esquemática da cadeia de ácido poligalacturônico variavelmente metilesterificado.	21
Figura 3 - FT-IR das amostras, PC, PCM-a, PCM-b e PCM-n.	36
Figura 4 -Espectro de RMN ¹³ C da amostra PCM-a em D ₂ O a 70°C.	38
Figura 5 - Representação esquemática da cadeia de ácido poligalacturônico com destaque para os hidrogênios um (H-1) e hidrogênios cinco (H-5) adjacentes a grupos carboxílicos metil esterificados e livres.	39
Figura 6- Espetro de RMN ¹ H da amostra PCM-a com deslocamentos químicos expressos em ppm usando água como padrão interno. Os picos entre 4,6 ppm e 4,8 ppm são de prótons H-5 adjacentes a grupos carboxilatos. Os sinais entre 4,9 ppm e 5,2 ppm são equivalentes a H-1 e H-5 de grupos carboxílicos metil esterificados.	40
Figura 7 - Bandas do FT-IR utilizadas para o cálculo do GE das amostras PC, PCM-a, PCM-b, PCM-n e PCM-as.	41
Figura 8- RMN ¹ H da amostra PCM-a com destaque para os picos relativos aos hidrogênios cinco adjacentes a éster (H5 – COOMe) e adjacentes a grupos carboxilatos (COO–), usados para o cálculo do Grau de Esterificação (GE), com os respectivos valores de integrais.....	44
Figura 9 - Curvas de degradação térmica das amostras PC e PCM-a obtidas em atmosfera de Nitrogênio com taxa de aquecimento de 10°C/min.....	45
Figura 10 - Curvas de degradação térmica das amostras PCM-a, PCM-b, PCM-n e PCM-as obtidas em atmosfera de Nitrogênio com taxa de aquecimento de 10°C/min.....	46
Figura 11 - Curvas de TGA das amostras: A - PCM-a; B - PCM-b; C - PCM-n e D - PCM-as.	48
Figura 12- Curva de DSC da amostra PCM-a	51
Figura 13– Degradação térmica da pectina do melão com curvas de DSC, TG e DTG.	51
Figura 14– Difração de raios-x das amostras PCM-a e PCM-as.	52
Figura 15 – Micrografias da amostra PCM-a seca por spray dried. Imagens em diferentes ampliações: 30.000x (A); 15.000x (B); 5.000x (C) e 1.000x (D).	53
Figura 16 - Curva de GPC para as amostras PC, PCM-a, PCM-as e PCM-b.	55
Figura 17 - Reologia da pectina do melão caipira, amostra PCM-a, e da pectina comercial (PC) na concentração de 0,4% a 25 °C.	57

Figura 18- Distribuição do Potencial Zeta das amostras: 1 - PCM-as; 2 - PCM-b e 3 - PCM-n.	58
Figura 19 – Distribuição do Potencial Zeta da amostra PCM-a.	59
Figura 20- FT-IR das amostras PC, PCM-a e PCM-as	60

LISTA DE FLUXOGRAMAS E TABELAS

Fluxograma 1 - Procedimento de extração da pectina do melão caipira usando como agentes extratores: solução de oxalato de amônio/ácido oxálico (pH 4,6); água deionizada (pH 7) e Hidróxido de sódio (pH 8).....	26
Fluxograma 2 – Procedimento de sulfatação da pectina do melão caipira extraída com solução de oxalato de amônio/ácido oxálico (pH 4,6).....	32
Tabela 1 - Composição nutritiva do melão em 100 g de polpa	20
Tabela 2 - Teor de pectina de algumas frutas (extração em meio ácido)	22
Tabela 3– Valores de rendimento das extrações em diferentes pHs	35
Tabela 4 - Grupos atribuídos às bandas do infravermelho conforme a literatura e os valores encontrados neste trabalho para pectina do melão caipira.	36
Tabela 5 - Grau de esterificação (GE) das amostras PCM-a, PCM-b, PCM-n e PCM-as por FT-IR.	42
Tabela 6- Etapas de degradação de PCM-a e perda de massa.....	49
Tabela 7 - Etapas de degradação de PCM-b e perda de massa.....	49
Tabela 8 - Etapas de degradação de PCM-n e perda de massa.....	49
Tabela 9 - Etapas de degradação de PCM-as e perda de massa.	50
Tabela 10 - Valores de polidispersividade e massas moleculares calculados pela análise de GPC das amostras PC, PCM-a, PCM-as e PCM-b.	55
Tabela 11- Constituintes básicos da pectina do melão caipira.	61

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

PCM	Pectina do Cucumis Melo.
PCM-a	Pectina extraída do Melão em meio ácido com oxalato de amônio.
PCM-b	Pectina extraída do Melão em meio básico com Hidróxido de sódio.
PCM-n	Pectina extraída do Melão em meio neutro com água destilada.
PCM-as	Pectina extraída do Melão em meio ácido e sulfatada
[η]	Viscosidade intrínseca
DSC	Calorimetria Exploratória de Varredura
DTG	Derivada de Análise Termogravimétrica
TG	Termogravimetria
GPC	Cromatografia de Permeação em Gel
GM	Grau de Metilação
FT-IR	Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
RMN ¹ H	Ressonância Magnética Nuclear de Próton de Hidrogênio
RMN ¹³ C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13

1 INTRODUÇÃO

O melão é um fruto muito apreciado e de expressiva popularidade em diferentes países como Turquia, Irã, Estados Unidos, Espanha e China que é o maior produtor mundial. Em 2009, o melão ocupava em todo o mundo uma área aproximada de 1,27 milhões de hectares (ha) e uma produção de 26,8 milhões de toneladas (t) de frutos, com uma produtividade média de 21 t/ha (Embrapa, 2010).

A cultura do meloeiro no Brasil mostrou forte evolução no período de 1980 a 1999, tendo um incremento da área cultivada de 5.661 para 15.000 ha, um aumento da ordem de 165%, elevando a produção em 250% (Crisóstomo *et al.*, 2002). Dados do IBGE (2008) mostram que essa área cultivada continuou crescendo atingindo 21.366 (ha).

Quanto ao comércio, em 2001 a exportação de melão foi equivalente a 39,3 milhões de dólares, sendo superado apenas pela manga, com 50,8 milhões (Crisóstomo *et al.*, 2002).

O Brasil ocupava em 2002 a 19ª posição na produção e produtividade de melão na América do Sul, passando a ocupar, em 2007, o primeiro lugar. Segundo a Embrapa (2010) o Brasil ocupa o décimo primeiro produtor mundial de melão, com forte aumento do consumo interno e das exportações. Um estudo sobre as exportações de frutas frescas realizado pelo Instituto Brasileiro de Frutas (Ibraf, 2011), revelou que de 2003 a 2010 o melão se manteve entre as três frutas mais exportadas pelo Brasil.

As principais áreas produtoras de melão no Brasil localizam-se no semiárido da região Nordeste, especificamente nas localidades de Mossoró e Assu no Rio Grande do Norte - RN e Baixo Jaguaribe-CE. As temperaturas elevadas, típicas do semiárido, abundância de sol e pouca chuva na maior parte do ano, além do alto nível tecnológico da lavoura do melão, colocam a região Nordeste em posição de destaque no cenário nacional (Maia, 2013). Ainda segundo Maia (2013), do total das vendas de melão no Brasil em 2012, os Estados do Ceará e Rio Grande do Norte forneceram 98,9%.

As principais espécies de melão cultivadas no Brasil são o *Cucumis melo inodorus*, também conhecido como melão espanhol, que possui casca lisa e cor amarela, e o *Cucumis melo cantaloupensis* ou melão japonês, que ao contrário do melão espanhol possui cheiro e a casca é enrugada. O melão espanhol é o mais cultivado na região do Rio Grande do Norte. Grande parte da produção é destinada à exportação, chegando a 40% do total. A fim de atingir o padrão de qualidade exigido pelo mercado externo, o custo de produção dos melões do tipo exportação torna-se mais elevado que os comercializados internamente. Por conta disso, o melão comercializado no mercado interno é de menor qualidade e provém principalmente do

pequeno produtor, que por vezes tem dificuldade de aumentar sua margem de lucro. Além disso, há espécies como o *Cucumis melo* var. *acidulus* ou melão caipira, que apesar de boa aceitação local, possui baixíssimo valor comercial. A razão disso é que o fruto amadurece muito rápido após a colheita e por ter a casca muito fina chega a romper-se, o que exige seu consumo imediato.

Considerando o grande potencial produtivo da região e as dificuldades de comercialização a preços mais vantajosos, o isolamento de substâncias específicas presentes no melão, como a pectina, e que apresentam relativa facilidade de extração, mostra-se como uma alternativa na valorização do fruto com consequente aumento dos lucros da comercialização.

Nesse sentido, propôs-se nesse trabalho a extração, caracterização e modificação química da pectina do melão caipira, dando ao fruto mais uma alternativa para seu uso tanto na indústria alimentícia quanto na farmacêutica, o que pode aumentar sobremaneira seu valor comercial.

Resíduos cítricos e polpa de maçã tem um alto conteúdo de polissacarídeos na parede celular, sendo as matérias primas principais para a produção de pectina comercial (Ralet e Thibault, 1994; Koubala *et al.*, 2008; Srivastava e Malviya, 2011).

Ainda segundo Koubala *et al.* (2008) resíduos de beterraba, pele de manga, cabeças de girassol e cactus são fontes de pectina comercial.

Pectinas estão presentes principalmente na parede celular primária e na lamela média de plantas, constituindo aproximadamente 40% da parede celular de frutas e vegetais, sendo um polissacarídeo complexo composto por uma cadeia principal de ácido galacturônico que pode ser metil-esterificado em variadas proporções (Voragen *et al.*, 2009; Monfregola *et al.*, 2011).

As partículas poliméricas coloidais, como a pectina, têm ocupado posição de destaque no cenário mundial podendo ser usadas como aditivos alimentares, por causa de suas propriedades espessantes, geleificantes e emulsificantes, na produção de geleias, ou como aditivos alimentares em sorvetes, sucos de frutas, pães e bolos. A aplicação na indústria cosmética para uso em nanocosméticos tem igualmente assumido importante destaque, dentre outros fatores, por possuir baixa toxicidade, em comparação com produtos inorgânicos, ou de origem animal (Martinez, 2013).

Em medicina, a atividade biológica de polissacarídeos sulfatados tem sido testada. O trabalho realizado por Ono e colaboradores (2003) mostrou que camundongos infectados com vírus da febre amarela e dengue tipo 1, quando tratados com galactomanana sulfatada, apresentaram resistência à morte em mais de 87%.

Os grupos sulfatos também são relatados como responsáveis pela atividade anticoagulante das substâncias conhecidas como heparinas, que também apresentam forte capacidade anti-inflamatória. O uso de heparinas como anticoagulante torna-se inviável pois sua forte atividade dificulta o estabelecimento de doses seguras. Até mesmo como anti-inflamatório, seu uso é limitado pela forte capacidade de causar hemorragias (Brito, 2008).

Dessa forma, a pesquisa por compostos semelhantes à heparina, os heparinóides, tem crescido bastante. Polissacarídeos que possam ser modificados quimicamente com a adição de grupos sulfatos podem ser de grande importância na utilização como antitrombótico adequado que possa substituir a heparina no tratamento e prevenção de ocorrências trombóticas.

A pectina extraída da polpa do melão caipira, apresenta-se como uma alternativa para esse mercado, pois pode ser facilmente retirada desse fruto, que é de baixo valor comercial, e apresenta uma vasta possibilidade de aplicações, dentre elas, como heparinóide com ação antitrombótica, que é a proposta desse trabalho.

2 REVISÃO DA LITERATURA

A planta em estudo neste trabalho foi cultivada em jardim, no Bairro de Mondubim na cidade de Fortaleza-Ce com coordenadas geográficas de 3°49'22'' latitude Sul e 38°33'28'' de longitude Oeste, sendo coletada em Fevereiro de 2014. O depósito foi realizado no Herbário Prisco Bezerra da Universidade Federal do Ceará - UFC, tendo como identificador o Prof. Dr. Edson Paulo Nunes, Departamento de Biologia da UFC; coletor André Luiz Nascimento de Sousa e número de exsicata 56115. Os demais detalhes de identificação são os que seguem abaixo, conforme classificação de Naudin (Mallick e Masui, 1986; Domingos, 2002):

Reino: *Plantae*

Divisão: *Magnoliophyta*

Classe: *Magnoliopsida*

Ordem: *Violales*

Família: *Cucurbitaceae*

Gênero: *Cucumis*

Espécie: *Cucumis melo*

Nome científico: *Cucumis melo* var. *acidulus*

A família Cucurbitaceae está dividida em duas sub-famílias – *Zanonioideae* e *Cucurbitoidae* e compreende por volta de 118 gêneros e 825 espécies. Os gêneros *Cucurbita*, *Sechium* e *Cyclanthera* são originários do Continente Americano e os outros vêm da África e Ásia Tropical (Domingos, 2002).

Aproximadamente 26 espécies de Cucurbitáceas são cultivadas como hortícolas em diversas regiões do mundo, sendo predominantemente cultivadas pelos seus frutos, com fins econômicos, com destaque para as abóboras, as melancias, os melões e os pepinos. Espécies de cucurbitáceas no Sul do Brasil têm sido cultivadas sob a forma de variedades locais adaptadas aos fatores climáticos da região. No entanto, muitas dessas espécies foram substituídas por híbridos ou outras variedades comerciais (Embrapa, 2006).

2.1 Do ineditismo do estudo da espécie *Cucumis melo* var. *acidulus*

Estudos relatam diferentes aspectos de diversas espécies de melão, no entanto, não foram encontradas investigações acerca da espécie *Cucumis melo* var. *acidulus*, seja sobre sua

composição nutricional, ou sobre o isolamento e caracterização de quaisquer de seus componentes químicos.

As características morfológicas da espécie em estudo são ilustradas pelas fotos que aparecem na Figura 1 a seguir. Percebe-se que quando maduro o fruto apresenta uma região central alaranjada onde ficam as sementes, polpa branca e pele amarela de espessura muito fina que chega a apresentar fissuras em sua superfície expondo a polpa.

Figura 1- Fases de desenvolvimento do melão caipira: verde (1); de vez (2); maduro (3)



Fonte: O autor

2.2 Constituição química do melão

O melão tem em sua composição principalmente os minerais sódio, potássio, magnésio e fósforo (Karakaya *et. al.*, 1995). Seu valor energético varia entre 20 e 60 kcal/100 g de polpa. Além disso, suprem totalmente as necessidades de vitaminas A e C no organismo.

A composição química do melão segundo a tabela brasileira de composição dos alimentos é mostrada na Tabela 1:

Tabela 1 -Composição nutritiva do melão em 100 g de polpa

Composição	Conteúdo	Composição	Conteúdo (mg)
Água	83 %	Niacina	0,5
Calorias	29 kcal	Riboflavina	0,02
Proteínas	0,7 g	Cálcio	3,0
Gorduras	0,1 g	Fósforo	12
Carboidratos	7,5 g	Sódio	9,0
Fibra	0,3 g	Magnésio	6,0
Vitamina A	140 UI	Potássio	188
Vitamina C	16 mg	Ferro	0,30
Tiamina	0,03 mg	Zinco	0,13

Fonte: (NEPA, 2011).

Além da polpa, as sementes das Cucurbitáceas também são consumidas em diversos países como México e China por serem ricas em proteína, tiamina, niacina, cálcio, ferro, fósforo e magnésio (Karakaya *et. al.*, 1995).

2.3 Bioatividades relatadas para o melão

Das várias plantas que se destacam com potencial atividade biológica, cita-se a família das Cucurbitáceas, historicamente uma das famílias de plantas mais relevantes no que se refere à produção de alimentos, fibras e fitoterápicos. Várias dessas espécies são conhecidas por suas características nutritivas e/ou medicinais (Bisognin, 2002). Dentre elas, destacam-se abóbora, chuchu, melancia, melão, moranga e pepino com grande importância na horticultura mundial (Baldin *et al.*, 2002).

Melões possuem propriedades antivirais potentes, estimulando o sistema imune e ativando anticorpos naturais que colaboram no combate a vírus. Estudos mostram ainda que o melão amargo tem propriedades anticarcinogênica, podendo ser usado como agente citotóxico em diversos tipos importantes de câncer, como o câncer de mama (Joseph e Jine, 2013).

Dentre as diversas substâncias úteis presentes no melão, foi destacado nesse trabalho a pectina, sobre a qual se discorre a seguir.

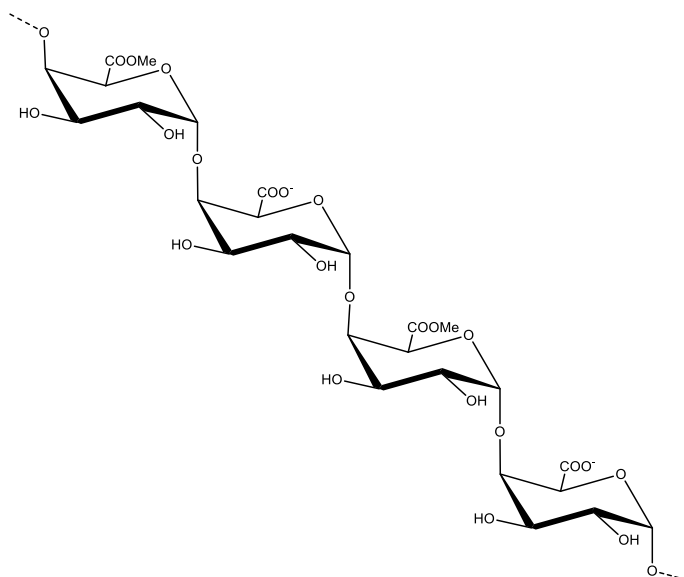
2.4 Pectinas

Os polissacarídeos são um importante conjunto de espécies químicas naturais às quais pertence a pectina, que podem ser encontradas tanto nos vegetais quanto na matéria animal.

Pectinas são macromoléculas glicosídicas de alta massa molecular que são encontradas no reino das plantas. Elas formam a maior parte da lamela média, uma fina camada de material adesivo extracelular encontrado entre as paredes de células adjacentes de plantas jovens (Alkorta *et al.*, 1997). Constitui mais de 60% da parede celular de plantas não gramíneas (Redgwell *et al.*, 1997; Posé *et al.*, 2012), cujos frutos têm sua firmeza reduzida durante o amadurecimento em função do metabolismo da pectina.

Em sua essência, substâncias pécicas são constituídas quimicamente por heteropolissacarídeos ramificados contendo de algumas centenas a mil blocos por molécula, numa cadeia constituída de resíduos de ácidos galacturônicos metilesterificados, unidos por ligações α -(1,4), conforme ilustra a Figura 2; esta cadeia contém regiões com blocos de L-ramnose, que podem ser substituídos em C-3 ou C-4 principalmente pelos açúcares neutros arabinose, galactose e xilose como cadeias laterais(Alkorta *et al.*, 1997; Monfregola *et al.*, 2011).

Figura 2 - Representação esquemática da cadeia de ácido poligalacturônico variavelmente metilesterificado.



Fonte: Elaborada pelo autor.

Pectinas são fibras que exercem importante papel no trato gastrointestinal, o que pode afetar o organismo como um todo. Por ser hidrofílica, a pectina absorve água retardando o esvaziamento do conteúdo gástrico para o intestino delgado, o que causa uma sensação de

saciedade, revelando-se útil no controle da obesidade. Por outro lado, cânceres de intestino desencadeados por dietas gordurosas e pobres em fibra, podem ser combatidos com a ação diurética da pectina que diminui o tempo de retenção do bolo fecal e, por conseguinte, de substâncias carcinogênicas no intestino. A pectina regula a absorção da glicose por meio da parede intestinal, sendo um caminho para o controle da diabetes (Monfregola *et al.*, 2011).

Sabe-se que as condições de cultivo, fontes, localização e métodos de processamento afetam a qualidade das pectinas (Iglesias e Lozano, 2004). Se for obtida de plantas é utilizada como aditivo para os produtos alimentícios, tendo efeitos benéficos para saúde, auxiliando na digestão e diminuição da quantidade de colesterol no sangue (Fietz *et al.*, 1999; Piedade *et al.*, 2003; Rodríguez *et al.*, 2006). A extração de pectinas com o uso de ácidos é o método preferido industrialmente para obtenção dessa substância, seja de cítricos ou outros materiais como casca de maçã e de soja ou cabeça de girassol.

As principais fontes de pectina e seus respectivos rendimentos são representados pelos frutos listados na Tabela 2.

Tabela 2 - Teor de pectina de algumas frutas (extração em meio ácido)

Frutas	Substâncias pécicas (%) – base seca
Manga	11,6
Limão	18,5
Bagaço de maçã	15 a 20
Polpa de beterraba	15 a 20
Girassol	25

Fonte: (Koubala *et al.*, 2008; Thakur *et al.*, 1997).

Não foram encontrados estudos sobre extração de pectina de melões em geral. No entanto, trabalhos relatam que o processamento desse fruto deixa como resíduos uma média de 60% da massa fresca dos frutos, distribuídos entre sementes, cascas e sobras de polpa (Miguel *et al.*, 2008). Portanto, tais resíduos mostram-se como uma fonte alternativa para obtenção de pectinas, que podem ser extraídas tanto da casca quanto da polpa do fruto, aumentando seu valor comercial, além de contribuir para resolver o problema da eliminação dos resíduos do

processamento que apesar de trazer lucros para a agroindústria, muitas vezes sofre restrições legais devido a problemas ambientais.

2.5 Grau de Esterificação (GE) de pectinas

As pectinas podem ser de baixo ou alto grau de esterificação (GE). O grau de esterificação é definido como a porcentagem de unidades de ácido galacturônico esterificado com metanol, grau de metilação (GM); ou ácido acético, grau de acetilação (GA). São consideradas de alto GE as pectinas com mais da metade dos seus grupos carboxílicos esterificados. Esse tipo forma géis com facilidade na presença de açúcar e baixo pH (2,5-3,8). As de baixo GE são as que têm menos da metade dos grupos carboxílicos esterificados com metanol. Neste caso, elas caracterizam-se por formar géis na presença de cátions divalentes como o cálcio, em uma faixa de pH de 2,5 a 7, não necessitando de grandes quantidades de açúcares, o que é ideal para a preparação de géis dietéticos (Campbell *et al.*, 1979; Koubala *et al.*, 2008).

O processo de extração influencia diretamente na estrutura fina de pectinas, que por sua vez se relaciona diretamente com suas propriedades funcionais, como a formação rápida de géis fortes, que dependem do GE. No entanto, parece existir um limite mínimo de pH da solução extratora, a fim de que não ocorra a hidrólise do material de forma a afetar sua estrutura, tanto na cadeia lateral, reduzindo seu grau de esterificação, quanto na cadeia principal, afetando o conteúdo de ácido galacturônico do material. Koubala e colaboradores (2007) relatam que pectinas extraídas com variação de pHs entre 1 e 3, temperatura de 75°C a 90°C e um tempo de 30 a 90 minutos, apresentaram uma variação no conteúdo de ácido galacturônico e grau de esterificação (GE) de 295 a 528mg/g e de 34 a 94%, respectivamente, enquanto que em água destilada o conteúdo de ácido galacturônico obtido foi de 860mg/g e o valor do GE de 73%. Portanto, é preferível o uso de ácidos orgânicos diluídos para o procedimento de extração como o ácido oxálico, que por apresentar um pH mais alto que os ácidos fortes, propicia menor hidrólise do material.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Isolar, caracterizar e modificar quimicamente a pectina do *Cucumis melo* var. *acidulus*.

3.2 Objetivos específicos

- Avaliar o efeito das condições de extração em diferentes pHs no rendimento das extrações;
- Caracterizar as pectinas das extrações nas condições ácida, básica e neutra, comparando com a pectina cítrica de uso comercial (PC);
- Modificar quimicamente, por sulfatação, a pectina extraída em meio ácido;
- Caracterizar a pectina sulfatada comparando com os resultados da pectina extraída em meio ácido e sem modificação.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Obtenção dos frutos e preparação da polpa para extração da pectina

Melões maduros foram colhidos de uma horta na cidade de Fortaleza. A higienização dos frutos foi feita por meio de lavagem com água potável, seguida por imersão em solução diluída de hipoclorito de sódio por 30 minutos. Com o uso de uma faca do tipo inoxidável dois melões foram abertos e suas polpas retiradas com auxílio de uma colher e recolhidas em recipiente de plástico com capacidade de 400 mL. Em seguida as polpas foram liofilizadas, pesadas e armazenadas à temperatura ambiente em depósitos lacrados com parafilme.

4.2 Extração da pectina do *Cucumis melo* var. *acidulus*

Os procedimentos de extração adotados estão de acordo com o proposto por Koubala e colaboradores (2008) com algumas modificações.

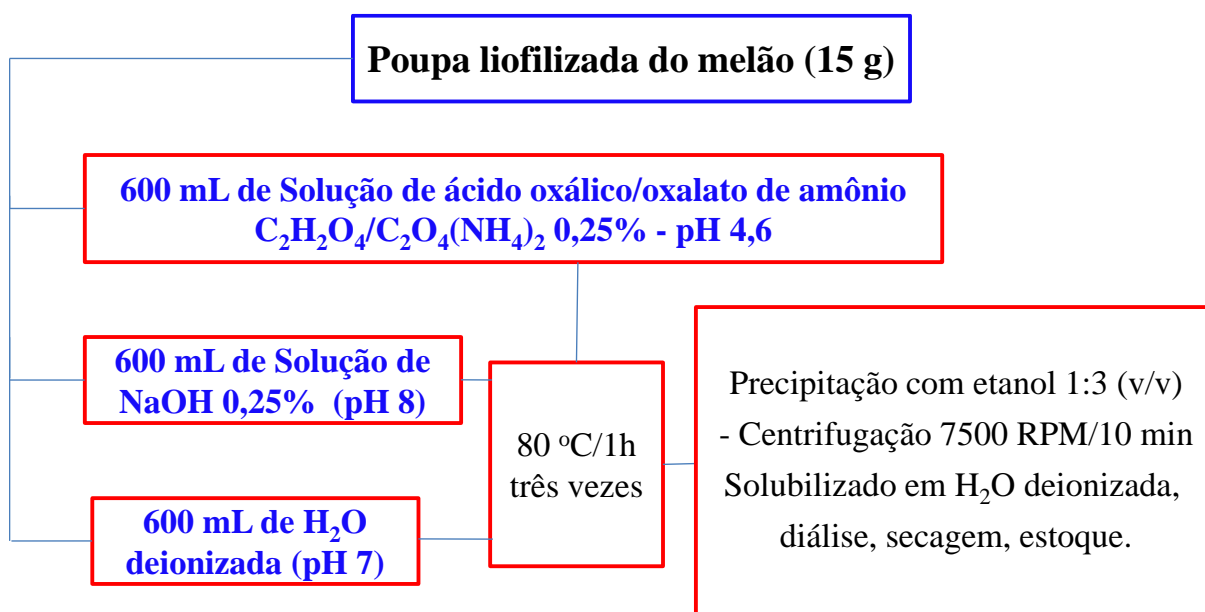
Três diferentes condições de extração foram aplicadas usando distintos agentes extratores: água destilada (meio neutro), ácido oxálico/oxalato de amônio (0,25% - pH 4,6) e em meio básico com o uso de hidróxido de sódio (0,25%).

Todas as extrações foram realizadas a 80 °C por uma hora, repetindo-se o processo duas vezes, totalizando três horas de extração.

Em um béquer colocou-se a polpa e a solução extratora na proporção de 1:40 (m/v). Levou-se o béquer a uma chapa aquecedora com agitação magnética, mantendo-se a temperatura da solução a 80 °C, por uma hora. Após esse tempo foi feita uma filtração a vácuo do material, sendo a parte sólida recolhida para uma nova extração. O filtrado das extrações foi recolhido no mesmo recipiente e após a terceira hora de extração a parte sólida foi descartada. Ajustou-se então o pH da solução (6 – 7) com NaOH. Após o ajuste, a pectina foi precipitada pela adição de três volumes de etanol 96%. Manteve-se a solução em repouso a 4 °C por cinco horas. Após centrifugação a 7500 rpm durante 10 min, o etanol foi descartado. A pectina resultante da centrifugação foi solubilizada em uma quantidade mínima de água e precipitada novamente com etanol nas mesmas condições anteriores. Uma terceira lavagem foi realizada e

a pectina obtida foi solubilizada em água deionizada e submetida a diálise por 48 horas com 2 trocas diárias, sendo liofilizada em seguida, pesada e armazenada à temperatura ambiente. Os rendimentos foram de 8,0%, 10,8% e 14% para as pectinas extraídas nos meios neutro, ácido e básico, respectivamente.

Conforme a condição de extração adotada, as amostras obtidas foram denominadas: PCM-a, PCM-b, PCM-n, respectivamente, para as extrações em meio ácido, básico e neutro. O procedimento de extração está representado no Fluxograma 1 abaixo:



Fluxograma 1 - Procedimento de extração da pectina do melão caipira usando como agentes extratores: solução de oxalato de amônio/ácido oxálico (pH 4,6); água deionizada (pH 7) e Hidróxido de sódio (pH 8).

4.3 Análise e caracterização da pectina do melão caipira

4.3.1 Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR)

Os resultados das análises de Infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) para as amostras PCM-a, PCM-b, PCM-n e PCM-as, foram realizadas em um espectrômetro Perkin Elmer Modelo 16 PC. Em seguida foi preparado a amostra em pastilhas de KBr (1:80) a dez toneladas para composição dessa pastilha.

4.3.2 Ressonância Magnética Nuclear (RMN-¹³C)

Para obtenção do espectro de (RMN-¹³C) da amostra PCM-a, esta foi solubilizada em água deuterada a 10 mg mL⁻¹ e transferida para um tubo de 5mm.

O espectro de RMN-¹³C foi obtido em frequência de 500 MHz a uma temperatura de 70 °C. A água foi utilizada como padrão interno (4,2 ppm) e os deslocamentos químicos foram mostrados em ppm.

4.3.3 Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN-¹H)

Para obtenção do espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN-¹H), a amostra PCM-a foi solubilizada em água deuterada a 10mg.mL⁻¹ e transferida para um tubo de 5 mm.

O espectro de RMN-¹H foi obtido em frequência de 500 MHz a uma temperatura de 70 °C. A água foi utilizada como padrão interno (4,2 ppm) e os deslocamentos químicos foram mostrados em ppm.

4.3.4 Determinação do Grau de Esterificação (GE)

Foram utilizados três métodos para determinação do grau de esterificação (GE) das amostras: Titulação Potenciométrica, Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR) e Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN-¹H) já adotados por outros autores anteriormente (Bochek *et al.*, 2001; Singthong *et al.*, 2004; Pinheiro *et al.*, 2008; Fellah *et al.*, 2009).

4.3.4.1 Determinação do GE por Titulação Potenciométrica

Para o método da titulação potenciométrica utilizou-se pectina seca (0,2 g) que foi colocada em um becker e umedecida com 2 mL de etanol 96%. Em seguida 20 mL de água destilada foi aquecida a 40 °C e adicionada à pectina umedecida com álcool. Foi acrescentado 5 gotas de fenolftaleína a essa solução a qual foi titulada com NaOH (0,1 mol/L), sendo esse resultado anotado como titulação inicial (Ti). Em seguida, foi acrescentado 10 mL de solução

de NaOH (0,1 mol/L) à amostra titulada a qual foi submetida a agitação constante por 2 h para saponificação dos grupos carboxílicos esterificados. Em seguida, foi adicionado 10 mL de HCl (0,1 mol/L), e a amostra foi agitada até a cor rosa desaparecer. Cinco gotas de fenolftaleína foram adicionadas e a solução foi então titulada com NaOH (0,1 mol/L) até o aparecimento de uma ligeira cor rosa, a qual persistiu após agitação. O volume de NaOH gasto nessa titulação foi registrado como titulação final (Tf). O volume de NaOH gasto na titulação final foi utilizado para calcular o número de grupos carboxílicos esterificados. O grau de esterificação foi calculado usando a Equação 1:

$$\% GE = \frac{Tf}{Tf + Ti} \times 100 \quad (1)$$

4.3.4.2 Determinação do GE por FT-IR

O grau de esterificação calculado por meio do Infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) foi feito a partir de análise gravada em um espectrômetro Perkin Elmer modelo 16 PC. A amostra PCM-a sólida foi macerada e transformada em um pó fino com o uso de um almofariz e pistilo e prensado em pastilhas de KBr (1:80) a oito toneladas para composição dessa pastilha. As bandas característicos do espectro de transmissão do infravermelho foram gravadas a uma resolução de 4 cm⁻¹ e uma região de comprimento de onda de 4000 cm⁻¹ a 300 cm⁻¹.

No espectro do infravermelho a área sob as bandas correspondentes aos Grupos Carboxílicos Esterificados - COO-R (1750 cm⁻¹) e a área sob a banda dos grupos carboxílicos livres COO⁻ (1600-1650 cm⁻¹) foi usada para o cálculo do GE.

A Equação 2 foi usada para calcular o grau de esterificação (GE) das amostras de pectinas através de FT-IR.

$$\% GE = \frac{GCE}{TGC} \times 100 \quad (2)$$

Onde, GCE se refere aos Grupos Carboxílicos Esterificados e TGC, ao Total de Grupos Carboxílicos, esterificados e livres.

Dessa forma, o GE é expresso como a razão entre a área dos grupos carboxílicos esterificados (GCE) e a área do total de grupos carboxílicos (TGC), multiplicada por 100. As áreas sob as bandas foram calculadas com o uso do *software Origin 8*.

4.3.4.3 Determinação do GE por RMN-¹H da pectina do melão caipira extraída em meio ácido

A amostra PCM-a foi solubilizada em água deuterada a 10 mg.mL⁻¹ e transferida para um tubo de 5 mm.

Os deslocamentos químicos dos hidrogênios foram encontrados por meio de sequências de pulsos próprias do equipamento de 16 varreduras.

A determinação do GE foi obtida por meio das integrais dos picos dos H-5 dos grupos esterificados e livres. Utilizou-se limitação manual para a região dos picos integrados.

4.3.5 Análise Termogravimétrica (TGA)

As curvas TGA das amostras foram obtidas em um módulo termogravimétrico DTG – 600 Hz. As medidas termogravimétricas foram efetuadas usando suporte de amostra de platina, valores médios de massas das amostras de 4,5 mg, razão de aquecimento de 10 °C . min⁻¹, num intervalo de temperatura de 25 a 800 °C, em atmosfera dinâmica de nitrogênio, com vazão de 30 mL min⁻¹. O equipamento utilizado foi um DTG modelo Q50 da TA Instrument.

4.3.6 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) da pectina do melão

As curvas DSC das amostras foram obtidas na faixa de temperatura entre 25 e 300 °C, em célula calorimétrica, sob atmosfera dinâmica de Nitrogênio. A célula DSC foi calibrada antes dos ensaios no eixo de temperatura, utilizando padrão de índio metálico (T_{fusão} = 156,6 °C) com pureza de 99,99%. Utilizou-se cápsulas de alumínio parcialmente fechadas contendo aproximadamente 5 mg de amostra e 10 mg de Alumina (α -Al₂O₃) como referência. O aquecimento foi realizado em uma taxa de 10 °C min⁻¹ e o equipamento utilizado foi um DSC Q20 V24.9 Build 121 da Shimadzu (Japão, Kyoto).

4.3.7 Dispersão de raios-x (DRX)

As análises de difração de raios-x das amostras PCM-a e PCM-as foram feitas em um difratômetro Bruker. Uma faixa de zero a 40 graus de dois theta foi usada e lâmbida de 1,54050 Å.

4.3.8 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Morfologia das paredes da amostra PCM-a foi examinada por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). As partículas foram depositadas em condutor decarbono de dupla face com fita adesiva em alumínio, e por revestido com ouro por pulverização. As amostras foram observadas em um Microscópio Eletrônico de Varredura FEI Inspect F50, a 20 kV.

4.3.9 Cromatografia de permeação em gel (GPC)

A técnica de Cromatografia de Permeação em Gel (GPC) foi utilizada para verificar dentre outros fatores possíveis, a massa molecular média e a polidispersividade das moléculas de pectina do melão caipira.

As análises por cromatografia de permeação em gel (GPC) para as amostras PCM-a, PCM-b e PCM-as foram realizadas em um cromatógrafo SHIMADZU LC-10AD com detector de índice de refração RID-10A a 40 °C. A coluna utilizada possui como características: Ultrahydrogel linear 7,8 x 300 mm, fase móvel de NaNO₃ 0,1 mol/L a temperatura ambiente, fluxo de 0,5 mL/min e o volume de amostra injetada foi de 20 µL. Para a determinação das massas molares das amostras analisadas utilizou-se padrões de pululanas (Shodex Denko®) (MM de 5.9 x 10³ a 7,88 x 10⁵ g/mol).

Além das amostras citadas foi submetida à análise, uma amostra de pectina cítrica comercial (PC) da marca SIGMA ALDRICH.

Todas as amostras foram preparadas na concentração de 1 mg/mL (0,1 % m/v) e filtradas em membrana Milipore® 0,45 µm.

4.3.10 Estudo reológico da pectina do melão caipira

As propriedades reológicas de fluxo contínuo das amostras PCM-a e PC foram determinadas na Universidade Federal do Ceará (UFC) em um equipamento Advanced Rheometer de Tensão Controlada AR2000 com banho de temperatura controlável e geometria do tipo cone-placa de 20 mm de diâmetro, ângulo de 2°00'40" e com um truncamento de 53 µm.

As amostras PCM-a e PC (0,5 mL a 0,4% m/v) foram adicionadas ao recipiente no estado fluido. A solução ao redor do cone foi mantida umedecida usando atmosfera saturada de solução ao redor da cela e o que evaporou não foi significativo nas escalas de temperatura e tempo utilizadas. As amostras foram equilibradas aproximadamente por 2 minutos antes de começar o experimento. As demais amostras, PCM-b, PCM-n e PCM-as, envolvidas nesse estudo não tiveram suas propriedades reológicas determinadas porque optou-se por fazer, com maior ênfase, comparações entre as propriedades da amostra comercial (PC) e amostra extraída em meio ácido (PCM-a), tendo em vista que essa última, é a preferida comercialmente.

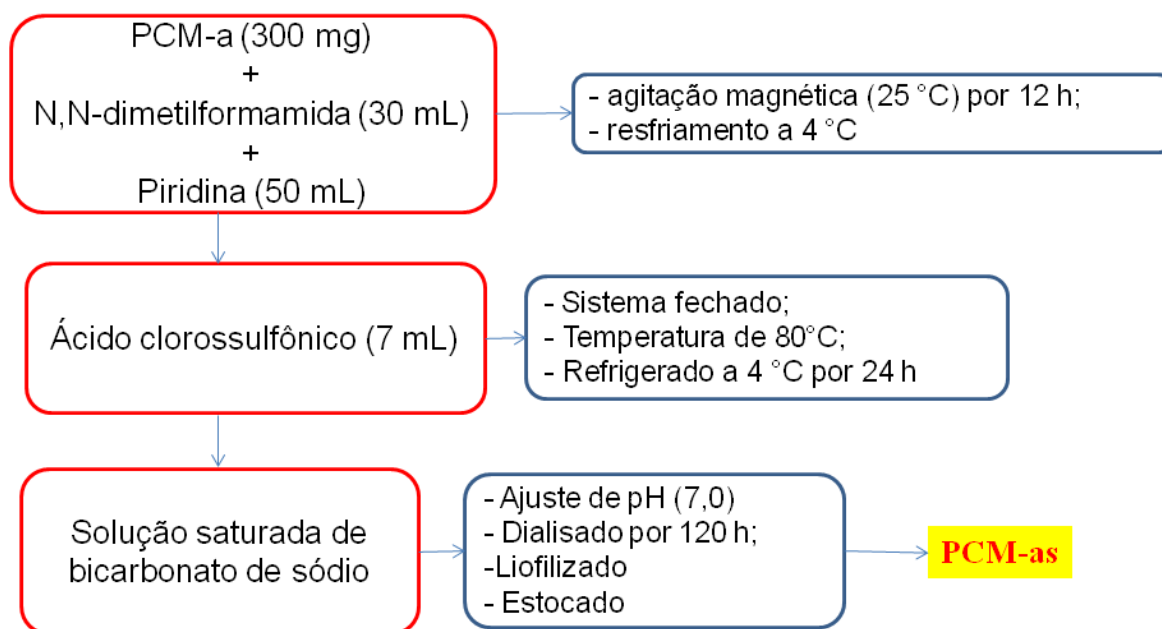
4.3.11 Potencial Zeta da pectina do melão caipira

O potencial zeta das amostras de PCM-a, PCM-b PCM-n e PCM-as foi determinado no Instituto Federal de Educação Tecnológica do Ceará (IFCE) com o uso do equipamento Zeta sizer nano 3000 – HS Doppler à temperatura ambiente, em pH 7. Foram preparadas soluções de 1 mg/mL para cada amostra (10 mL). Alíquotas de 1 mL de cada amostra foram coletadas e dispostas em cubetas próprias do equipamento e submetidas a análise.

4.4 Modificação química da pectina obtida do melão caipira - Procedimento de Sulfatação

Neste estudo optou-se pela sulfatação da amostra extraída em condições ácidas (PCM-a), utilizando-se solução aquosa 0,25% de ácido oxálico/oxalato de amônio (pH 4,6), por ser, com agente extrator ácido, o modo utilizado na indústria para extração de pectina comercial. Além disso, usou-se ácido oxálico, um ácido orgânico, em vez de outros utilizados na indústria, como o ácido clorídrico ou ácido nítrico, por apresentar aquele, vantagens em relação a estes, como menor agressão à estrutura geral do material, o que determina diretamente suas características funcionais como velocidade de formação e força de géis (Koubala *et al.*, 2007).

Para realização da sulfatação adotou-se o procedimento experimental adaptado da metodologia empregada por O'Neill (1955) e Ono *et al.* (2003), em que 300 mg de PCM-a liofilizada foram adicionadas em uma mistura de piridina e N,N-dimetilformamida (50:30 v/v), com agitação magnética, a 25 °C por doze horas, seguido por resfriamento a 4 °C por mais doze horas. Levou-se a mistura à chapa aquecedora, sob agitação magnética, até que a temperatura atingisse 80 °C e adicionou-se lentamente 7 mL de ácido clorossulfônico. A solução obtida foi então resfriada à temperatura ambiente e neutralizada com uma solução saturada de bicarbonato de sódio. Após diálise (membrana de corte 12.000 g/mol) por 120 h, a amostra obtida foi liofilizada a -5 °C, sendo nomeada de PCM-as. O procedimento de sulfatação está resumido no Fluxograma 2 a seguir:



Fluxograma 2 – Procedimento de sulfatação da pectina do melão caipira extraída com solução de oxalato de amônio/ácido oxálico (pH 4,6).

4.4.1 Análise elementar das amostras PCM-a e PCM-as

Com o objetivo de quantificar o percentual e qualificar os elementos químicos presentes nas amostras de pectina, foi realizada a técnica de análise elementar. Optou-se por analisar apenas as amostras PCM-a e PCM-as a fim de perceber-se a diferença no percentual de enxofre entre as amostras antes e após a sulfatação.

A composição dos elementos químicos presentes nas amostras PCM-a e PCM-as foi realizado por meio de um equipamento Perkin-Elmer CHNS 2400 analyzer. Por meio dessa técnica foram quantificados os teores de carbono, hidrogênio, cálcio, sódio nitrogênio e enxofre nas amostras citadas.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Extrações e rendimentos

Todas as soluções obtidas após as extrações nos três diferentes agentes extratores apresentaram precipitação instantânea de pectina, que se revelaram como pequenas esferas transparentes que ficaram em suspensão na solução com etanol. Após 24 h de repouso, um gel forte precipitou na solução, e uma porção menor do material insolúvel permaneceu em suspensão. Todas as soluções apresentaram aspecto amarelado quando da etapa de lavagem, tornando-se clara após a terceira lavagem com etanol.

As extrações em meio ácido e neutro apresentaram extratos de aspecto gelatinoso e com tonalidade clara e translúcida. Essa cor clara sofreu ligeiro escurecimento quando da extração em meio básico. O pH das soluções não sofreu variação durante o procedimento de extração, não necessitando, portanto, de tamponamento para as soluções neutra e básica.

A solução extratora de hidróxido de sódio 0,25% (meio básico) foi a que resultou em maior rendimento (14%), seguida da ácida (10,8%). A extração em meio neutro apresentou o menor rendimento (8%). Koubala e colaboradores (2008) apresentaram resultados de extração de pectina de manga em HCl (pH 1,5), com oxalato de amônio, e com água, cujos rendimentos foram menores quando água foi usada como solução extratora, corroborando com os resultados desse trabalho. Os autores apontam a solução de oxalato de amônio como a mais eficiente no processo de extração. Soluções extratoras preparadas com ácidos fracos (pH de 3,5-4,6) têm sido preferidas em relação às obtidas de ácidos fortes (pH 1,5-2,0), por apresentarem maiores rendimentos e fornecerem pectinas com grau de esterificação mais elevados que em pH muito baixos (Kalapathy e Proctor, 2001; Koubala *et al.* 2008; Pinheiro *et al.*, 2008).

Ralet e Thibault (1994) mostram que parte do material hidrolisado durante a extração com ácido forte (pH 1,5-2,0) pode se perder durante o processo de diálise, representando redução expressiva no rendimento. Outro fator desfavorável ao rendimento de extração com ácido forte é o fato das partes hidrolisadas não virem a precipitar em etanol (Kalapathy e Proctor, 2001). Há relatos de que resíduos de extrações em pH muito baixos são inadequados a nutrição humana, além disso, soluções ácidas acarretam poluição da água e corrosão (Ralet e Thibault, 1994). Dessa forma, a extração com ácido oxálico/oxalato de amônio (pH 4,6) mostra-se vantajosa, sob vários aspectos como aumento do rendimento de extração, grau de esterificação mais elevado, maior confiabilidade de aplicação na indústria de alimentos e sobretudo, do ponto de vista ambiental.

Kalapathy e Proctor (2001) defendem que não há diferença significativa no rendimento de extração quando do incremento do pH acima de 3,5. Entretanto, há relatos de que quantidades substanciais de pectina foram extraídas sob condições alcalinas quando comparadas com condições neutras de extração (Yeoh *et al.*, 2008). Entretanto, o processo de extração em meio básico causa instabilidade na cadeia principal da molécula de pectina conferindo-lhe uma tendência à decomposição. Diante disso, a precipitação de pectina com etanol fica impossibilitada. Portanto, a extração de pectina sob condições alcalinas é pouco utilizada (Yeoh, 2008).

Os resultados dos rendimentos de extração nos métodos utilizados estão tabulados na Tabela 3:

Tabela 3– Valores de rendimento das extrações ácida(pH 4,6), básica (pH 8,0) e neutra (pH 7,0)

Extração	Massa (mg)	Rendimento (%)
Ácida	108	10,8
Neutra	80	8,0
Básica	140	14,0

Fonte: Elaborada pelo autor

5.2 Análise e caracterização da pectina do melão caipira

5.2.1 Análise do FT-IR da pectina do melão em diferentes condições de extração e sua comparação com a pectina cítrica de uso comercial (PC)

A técnica do Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR) mostra-se bastante útil para análise e comparação de diferentes pectinas, por meio de bandas características de fácil identificação as quais têm sido relatadas em outros estudos (Kalapathy e Proctor, 2001; Monfregola *et al.*, 2011).

A Tabela 4 a seguir mostra as principais bandas observadas na Região do Infravermelho entre 4000 e 300 cm^{-1} e seus respectivos grupos, bem como, os valores encontrados neste trabalho, para a pectina extraída do melão caipira em diferentes condições de extração.

Tabela 4 - Grupos atribuídos às bandas do infravermelho conforme a literatura e os valores encontrados neste trabalho para pectina do melão caipira.

Nº de onda (cm ⁻¹)	Atribuições	Nº de onda (cm ⁻¹) ^{NT}
3600-2500 ¹	v (O-H) – forte, extensa	3400
3000-2800 ¹	v (C-H) – curta, ocasional	2900
1744 ¹	v (C=O éster), forte	1736
1617 ¹	v _{as} (COO ⁻), forte	1637
1441 ¹	v (COO ⁻), fraca	1426
1246 ²	v _{as} (S=O)	1251
1200-1100 ¹	v (COC) éter do anel glicosídico; C-C	1147
956 ²	δ C-H em configuração α	966
906 ²	δ C-H em configuração β	921
828 ²	Aromáticos com substituição no anel (C-O-S)	833

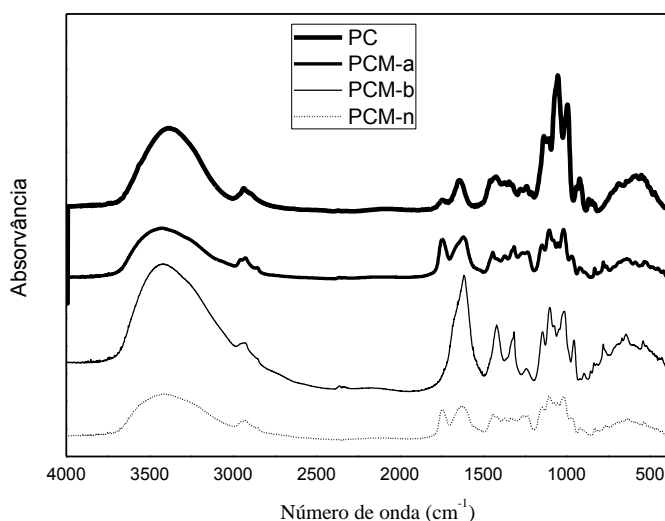
1 – (Monfregola *et al.*, 2011)

2 – (Silverstein e Webster, 1996)

NT – Neste Trabalho

Uma análise do espectro de infravermelho mostrado na Figura 3 para a pectina do melão caipira extraída em meio ácido, alcalino e neutro comparada à pectina cítrica comercial (PC) da SIGMA ALDRICH, revela regiões particularmente relacionadas como estruturas e composições típicas de pectinas.

Figura 3 - FT-IR das amostras, PC, PCM-a, PCM-b e PCM-n.



Fonte: Elaborada pelo autor

A região de 2960-2940-cm⁻¹ apresenta bandas típicas de grupos C-H (Monfregola *et al.*, 2011).

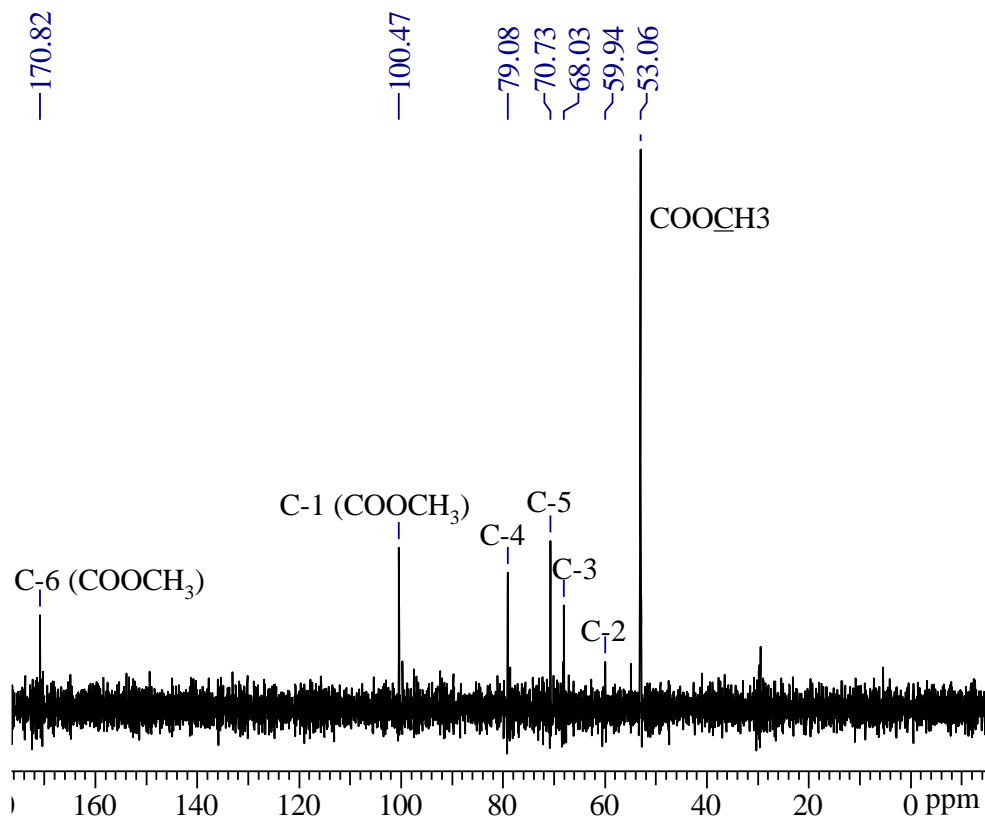
As bandas de absorção fortes e largas entre 3600 e 2500 cm^{-1} são indicativas de estiramentos de grupos O-H. No caso da pectina as ligações O-H se dão devido às ligações de hidrogênio inter e intramolecular da cadeia de ácido galacturônico (Kalapathy e Proctor, 2001).

A região característica de grupos carboxílicos (1750-1350 cm^{-1}) também aparece claramente. Destacam-se com maior intensidade a banda esterificada C=O (1750 cm^{-1}) e o grupo desprotonado COO^- (1600-1650 cm^{-1}), os quais podem ser relacionados ao grau de esterificação (GE) o que é de grande importância para esses compostos (Fellah *et al.* 2009).

5.2.2 Análise do RMN- ^{13}C da pectina do melão caipira extraída em meio ácido

A estrutura química da pectina do melão caipira foi estudada por RMN ^{13}C , cujos picos são mostrados na Figura 4 a seguir. O sinal em 170,82 se refere ao C-6 de grupos carboxílicos esterificados de ácidos galacturônicos. Dois sinais aparecem em 100,47 e 99,7 (não mostrado no gráfico) equivalentes ao C-1 de unidades de ácidos galacturônicos esterificados e livres. O pico intenso em 53,06 ppm é indicativo de grupos metil ligados a grupos carboxílicos de ácidos galacturônicos. Os sinais a 79,08, 70,73, 68,03 e 59,94 foram relacionados ao C-4, C5, C3 e C2 de unidades de ácidos galacturônicos, respectivamente. Estes sinais são condizentes com os encontrados para pectinas, que possui uma cadeia principal de ácidos galacturônicos com eventuais sequências de ramnose e galactose (Há *et al.*, 2005; Zykwinska *et al.*, 2006; Cárdenas, Goycoolea e Rinaudo, 2008; Vriesmann e Petkowicz, 2009).

Figura 4 -Espectro de RMN ^{13}C da amostra PCM-a em D_2O a 70°C .

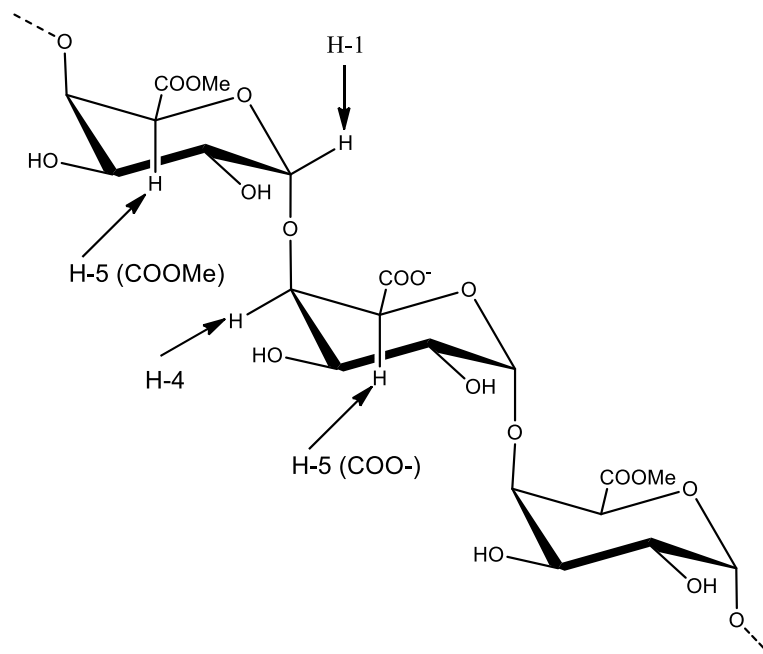


Fonte: Elaborada pelo autor

5.2.3 Análise do RMN- ^1H da pectina do melão caipira extraída em meio ácido

Conforme Rosenbohm *et al.* (2003), nos espectros de RMN- ^1H os sinais relativos aos hidrogênios um (H-1) e cinco (H-5) de grupos ácidos metilesterificados (COOCH₃) dos monômeros de ácidos galacturônicos localizam-se por volta de 5 ppm. Já o próton H-5 de grupos ácidos carboxílicos livres (COO⁻) estão representados por dois sinais em 4,6 ppm e 4,9 ppm. A Figura 5 ilustra os prótons H-5 adjacentes aos grupos citados.

Figura 5 - Representação esquemática da cadeia de ácido poligalacturônico com destaque para os hidrogênios um (H-1) e hidrogênios cinco (H-5) adjacentes a grupos carboxílicos metil esterificados e livres.

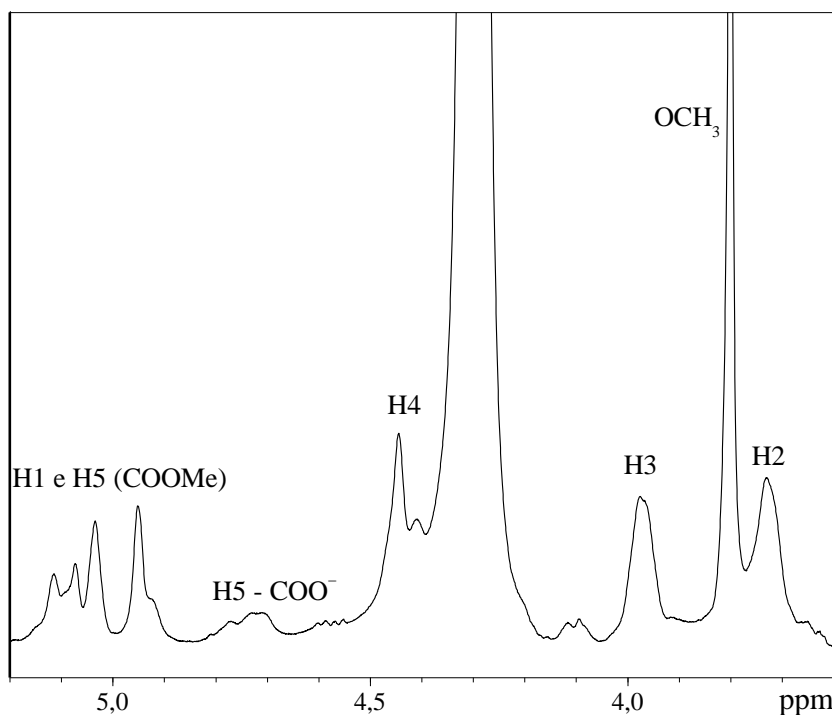


Fonte: Elaborada pelo autor

Corroborando com a informação do autor, na Figura 6 pode-se observar os picos relativos a esses hidrogênios, com H-5 (COO⁻) aparecendo em 4,65 ppm e 4,85 ppm, enquanto que os sinais para os prótons H-5 de grupos ésteres localizam-se entre 4,9 ppm e 5,2 ppm, estando o próton do carbono anomérico H-1 em campo mais alto sobreposto por H-5. Os prótons relativos aos carbonos dois e três (H-2 e H-3) são relacionados aos sinais que aparecem por volta de 3,7 ppm e 4,0 ppm, respectivamente, os quais raramente são afetados por metoxilação de ácidos galacturônicos (Rosenbohm *et al.*, 2003; Winning *et al.*, 2007). Assim, os sinais que aparecem em 3,72 ppm e 3,97 ppm, são atribuídos aos prótons H-2 e H-3, respectivamente. Os prótons do carbono quatro (H-4) relacionam-se ao sinal em aproximadamente 4,48 ppm, conforme encontrado por Bédouet, Bédouet e Courtois (2003). Neste trabalho, este sinal aparece em 4,44 ppm.

Pode ser observado ainda na Figura 6 que existe um pico agudo em 3,8. Este sinal foi encontrado em outros trabalhos e atribuído a grupos metoxil de pectina esterificada (Winninga *et al.*, 2007; Taboada *et al.*, 2010).

Figura 6- Espectro de RMN ^1H da amostra PCM-a com deslocamentos químicos expressos em ppm usando água como padrão interno. Os picos entre 4,6 ppm e 4,8 ppm são de prótons H-5 adjacentes a grupos carboxilatos. Os sinais entre 4,9 ppm e 5,2 ppm são equivalentes a H-1 e H-5 de grupos carboxílicos metil esterificados.



Fonte: Elaborada pelo autor

5.2.4 Determinação do Grau de esterificação (GE) da pectina de melão caipira

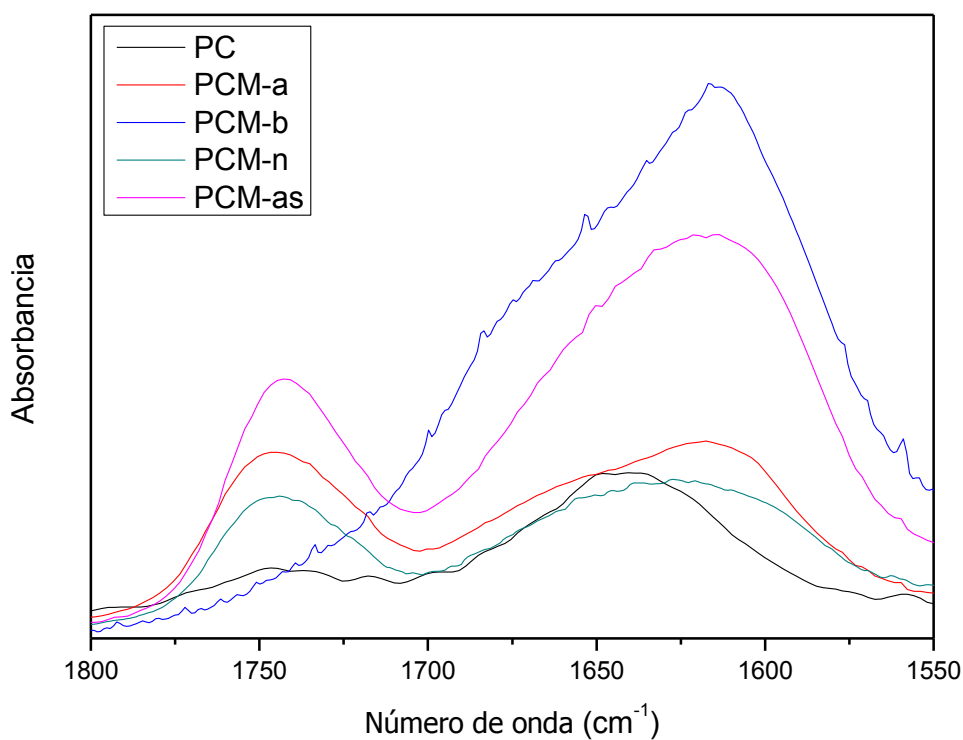
O comportamento das pectinas dependem tanto da quantidade de grupos iônicos ligados a ela quanto de sua distribuição ao longo da cadeia principal. Assim, se faz importante a determinação do GE das pectinas a fim de se predizer seu comportamento em solução (CAMERON *et al.*, 2008).

Existem vários métodos para determinação do grau de esterificação, dentre eles estão o infravermelho (Fellah *et al.*, 2009), a ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ^1H) e titulação potenciométrica (Boчек *et al.*, 2001). Neste trabalho, foram utilizados três métodos para determinação do GE: Titulação Potenciométrica, FT-IR e ^1H -NMR para a amostras PCM-a e PC, sendo que a amostra PC não foi analisada por ^1H -NMR. Já as amostras PCM-b e PCM-n foram analisadas apenas por FT-IR. A escolha das três análises apenas para a amostra PCM-a foi motivada pelo interesse em comparar o resultado de suas análises com a amostra comercial (PC).

5.2.4.1 Determinação do Grau de esterificação (GE) das pectinas de melão por FT-IR

A determinação do grau de esterificação (GE) das amostras PCM-a, PCM-b, PCM-n e PCM-as por meio da integração das bandas características dos grupos carboxílicos esterificados (COOR) e livres (COO⁻) mostrados no espectro do Infravermelho (FT-IR) na Figura 7, está de acordo com a metodologia proposta por Fella *et al.* (2009).

Figura 7 - Bandas do FT-IR utilizadas para o cálculo do GE das amostras PC, PCM-a, PCM-b, PCM-n e PCM-as.



Fonte: Elaborada pelo autor

Para os cálculos de terminação do GE foi utilizada a Equação 2 a seguir:

$$\% GE = \frac{GCE}{TGC} \times 100 \quad (2)$$

Os termos da Equação 2 referem-se à área sob a banda dos grupos carboxílicos esterificados (GCE), dividida pela área sob a banda dos grupos carboxílicos esterificados e

livres (Total de grupos carboxílicos – TGC), obtidas por meio do cálculo de integração, multiplicados por 100, fornecendo o valor do GE para cada amostra.

Os valores de GE calculados estão dispostos na Tabela 5.

Tabela 5 - Grau de esterificação (GE) das amostras PCM-a, PCM-b, PCM-n e PCM-as por FT-IR.

Amostras	GE (%)
PC	36,0
PCM-a	41,0
PCM-b	-
PCM-n	36,0
PCM-as	29,0

Fonte: Elaborada pelo autor

A amostra PC apresentou o menor grau de esterificação, como esperado, já que a amostra comercial adquirida apresenta foi de baixo GE. Assim as demais amostras tiveram os resultados da PC como parâmetros comparativos de seus dados obtidos.

A amostra PCM-a apresentou o maior GE dentre as amostras analisadas estando de acordo com resultados prévios em que ácidos orgânicos apresentaram pectinas com maior grau de esterificação que outros agentes extratores como ácidos fortes a pHs entre 1 e 3 (Koubala *et al.*, 2008).

A pectina extraída em meio básico apresentou uma supressão da banda dos grupos carboxílicos esterificados, o que sugere que houve saponificação destes grupos (Ralet e Thibault, 2001).

Quando extraída com água (amostra PCM-n), o GE ficou próximo do obtido para a amostra PCM-a, sugerindo que a extração com o ácido oxálico, um ácido orgânico, apresenta pouco efeito de hidrólise parcial na estrutura da pectina, mantendo sua estrutura próxima à obtida por extração em meio neutro, com a vantagem de apresentar um maior rendimento de extração. Estes resultados corroboram com os encontrados por Koubala e colaboradores (2008) ao comparar o efeito de diferentes agentes extratores no GE pectinas.

A amostra sulfatada (PCM-as) apresentou GE muito menor do que o obtido para a amostra sem modificação (PCM-a), caindo de 41 para 29, o que representa em termos percentuais, uma redução de cerca de trinta por cento. Essa mudança comprova que ocorreu a substituição dos grupos carboxílicos metilesterificados por ésteres de sulfato, reduzindo a

intensidade da banda do infravermelho em aproximadamente 1700 cm^{-1} , equivalente aos grupos carboxílicos esterificados.

5.2.4.2 Determinação do Grau de esterificação (GE) da pectina do melão caipira por titulação potenciométrica

As amostras PC, PCM-n, PCM-b e PCM-as não foram submetidas a essa análise pois estas tiveram seu GE calculado por FT-IR. O objetivo então, foi o de calcular o GE das amostras PC e PCM-a, a fim de comparar seus resultados, já que o parâmetro usado nesse trabalho teve por base a amostra PC, de uso comercial.

O valor de GE para a amostra PC e PCM-a foi calculado usando a Equação 1.

$$\% GE = \frac{Tf}{Tf + Ti} \times 100 \quad (1)$$

O volume total de NaOH gasto na titulação inicial (Ti) foi de 1,8 mL. A quantidade de NaOH gasto na titulação final (Tf) foi de 1,6 mL. Após as substituições o grau de esterificação GE (%) encontrado foi de 47%. Apesar desse valor ser maior que o apresentado por FT-IR, o resultado é condizente com os valores atribuídos a pectinas de baixo grau de esterificação, ou seja, $GE < 50\%$.

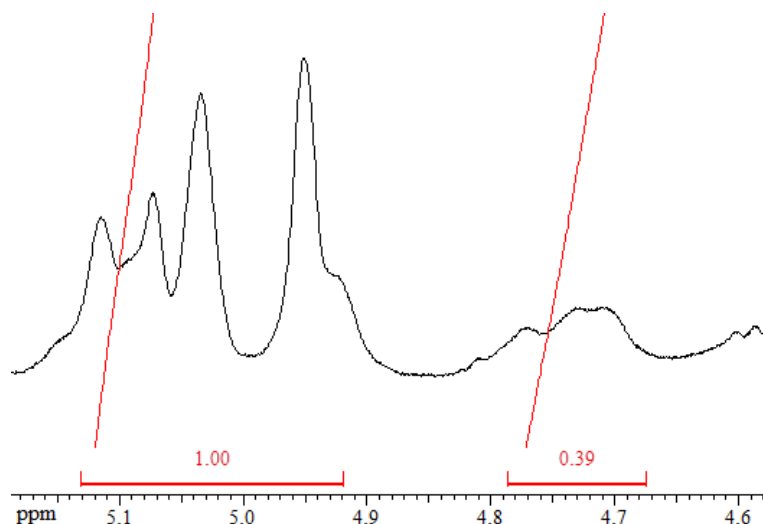
Ao aplicar essa metodologia para determinação do GE da pectina cítrica comercial (SIGMA ALDRICH), obteve-se um GE de 39%. Tais valores são coerentes com os encontrados por FT-IR para as mesmas amostras, onde para PC, o valor de GE foi de 36% e para PCM-a de 41%. Estes dados confirmam a eficácia do método titulométrico para o cálculo do grau de esterificação de pectinas.

5.2.4.3 Determinação do Grau de esterificação (GE) por RMN-¹H da pectina do melão caipira extraída em meio ácido

A determinação do GE por RMN ¹H tem como fundamento o aparecimento dos picos característicos de grupos carboxílicos livres e metilesterificados que se destacam respectivamente entre 4,6-4,9 ppm e 5 ppm, aproximadamente (Rosenbohm *et al.*, 2003).

Conforme destacado na Figura 8, os picos relativos aos H-5 adjacentes a éster e H-5 próximos a grupos carboxílicos livres aparecem em 4,9-5,2 ppm e 4,65-4,85 ppm respectivamente.

Figura 8- RMN 1H da amostra PCM-a com destaque para os picos relativos aos hidrogênios cinco adjacentes a éster (H5 – COOMe) e adjacentes a grupos carboxilatos (COO–), usados para o cálculo do Grau de Esterificação (GE), com os respectivos valores de integrais.



Fonte: Elaborada pelo autor

A definição de Grau de Esterificação (GE) é relatada como sendo a comparação entre a quantidade de grupos ésteres e o total de grupos ácidos carboxílicos. Para a determinação do GE, as integrais de H-5 próximos a ésteres (I_{COOMe}) são comparadas à soma dos valores das integrais de H-5 adjacentes a ésteres (I_{COOMe}) com H-5 de grupos carboxilatos (I_{COO-}). As integrais de H-5 de grupos ésteres inclui os picos relativos a H-1, devido à proximidade ou sobreposição destes dois sinais. Por conta disso, é feita uma manipulação matemática que contemple na fórmula para o cálculo de GE as integrais dos sinais de H-1, H-5 (I_{COOMe}) e H-5 (I_{COO-}). Assim, após algumas considerações matemáticas, tem-se a Equação 3 para o cálculo do GE, conforme proposto por Rosenbohm e colaboradores (2003).

$$\begin{aligned}
 GE &= \frac{I_{COOMe}}{I_{COOMe} + I_{COO-}} = \frac{2I_{COOMe}}{2(I_{COOMe} + I_{COO-})} \\
 &= \frac{I_{COOMe} + I_{COOMe} + (I_{COO-} - I_{COO-})}{(I_{COOMe} + I_{COOMe} + I_{COO-} + I_{COO-})}
 \end{aligned}$$

Após feitas as devidas simplificações obtém-se:

$$GE = \frac{(I_{COOMe} + I_{H1}) - (I_{COO-})}{(I_{COOMe} + I_{H1}) + I_{COO-}} \quad (3)$$

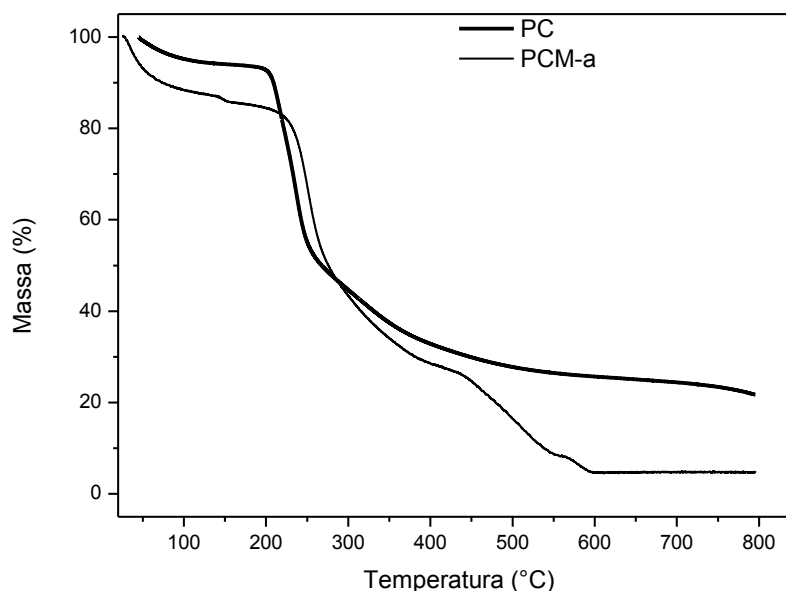
O valor de GE encontrado após as integrações e cálculos foi de 43,9%. Tal resultado alia-se aos encontrados com o uso das técnicas de FT-IR e Titulação Potenciométrica para caracterizar a pectina do melão caipira como de baixo GE.

5.2.5 Análise Termogravimétrica (TGA)

A perda de massa da amostra em atmosfera de Nitrogênio foi estudada com o objetivo de investigar possíveis alterações nas principais etapas de degradação térmica da pectina do melão obtida nas três diferentes condições de extração, bem como, da pectina modificada por sulfatação (PCM-as).

A análise térmica da pectina extraída em meio ácido foi comparada com a da pectina comercial (PC) conforme Figura 9 a seguir.

Figura 9 - Curvas de degradação térmica das amostras PC e PCM-a obtidas em atmosfera de Nitrogênio com taxa de aquecimento de 10°C/min



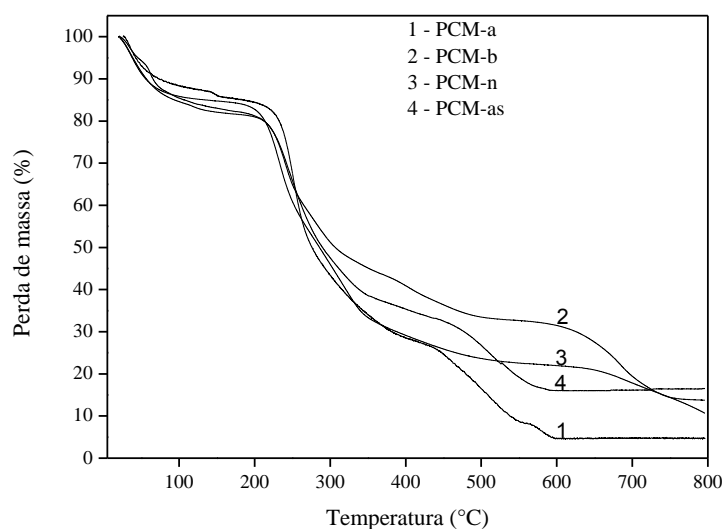
Fonte: O autor

Pela imagem acima se percebe a clara semelhança na degradação das amostras comercial (PC) e da pectina do melão caipira extraída em meio ácido (PCM-a). A perda de massa em três etapas é evidente para ambas as amostras. O primeiro estágio de perda de massa da amostra PC começa por volta de 60 °C e corresponde a cerca de 10% de perda de massa de

água presente na amostra. O segundo passo de perda de massa inicia em cerca de 140 °C e corresponde à principal perda de massa, num total de 51% da amostra; nessa etapa ocorre a perda de grupos ácidos da cadeia lateral e carbonos do anel piranosídico. O terceiro passo corresponde à etapa oxidativa e pode ser avaliado em 22% do total da amostra. O teor de cinzas pode estimado em aproximadamente 17%.

Pela semelhança entre as etapas de degradação das pectinas PC e PCM-a, pode-se inferir que as amostras analisadas tratam-se do mesmo tipo de material. Dessa forma, a seguir é feita a análise das etapas de degradação térmica, mostradas na Figura 10, da pectina extraída em meio ácido (PCM-a) em comparação com as extraídas em meio neutro (PCM-n), básico (PCM-b), bem como, com a ácida sulfatada (PCM-as).

Figura 10 - Curvas de degradação térmica das amostras PCM-a, PCM-b, PCM-n e PCM-as obtidas em atmosfera de Nitrogênio com taxa de aquecimento de 10 °C/min



Fonte: Elaborada pelo autor

As amostras revelaram características de degradação térmica em três etapas, próprio de pectinas (Stoll *et al.*, 2007). Na amostra PCM-a, o primeiro passo ocorre por volta de 70 °C, equivalente a perda de água e pode ser avaliado em 15% da massa inicial; em seguida vem o segundo passo, entre 176 °C e 405 °C. Neste intervalo de temperatura, a degradação da amostra fica por volta de 57% de perda de massa, valores próximos ao encontrado em outros trabalhos (Stoll *et al.*, 2009). Tem sido relatado que nessa etapa ocorre a decomposição pirolítica que consiste em descarboxilação primária e secundária envolvendo o grupo ácido lateral e um

carbono do anel (Monfregola *et al.*, 2011). A terceira etapa acontece entre 410 °C e 618 °C. O teor de cinzas calculado para essa amostra foi de 5% da massa total analisada.

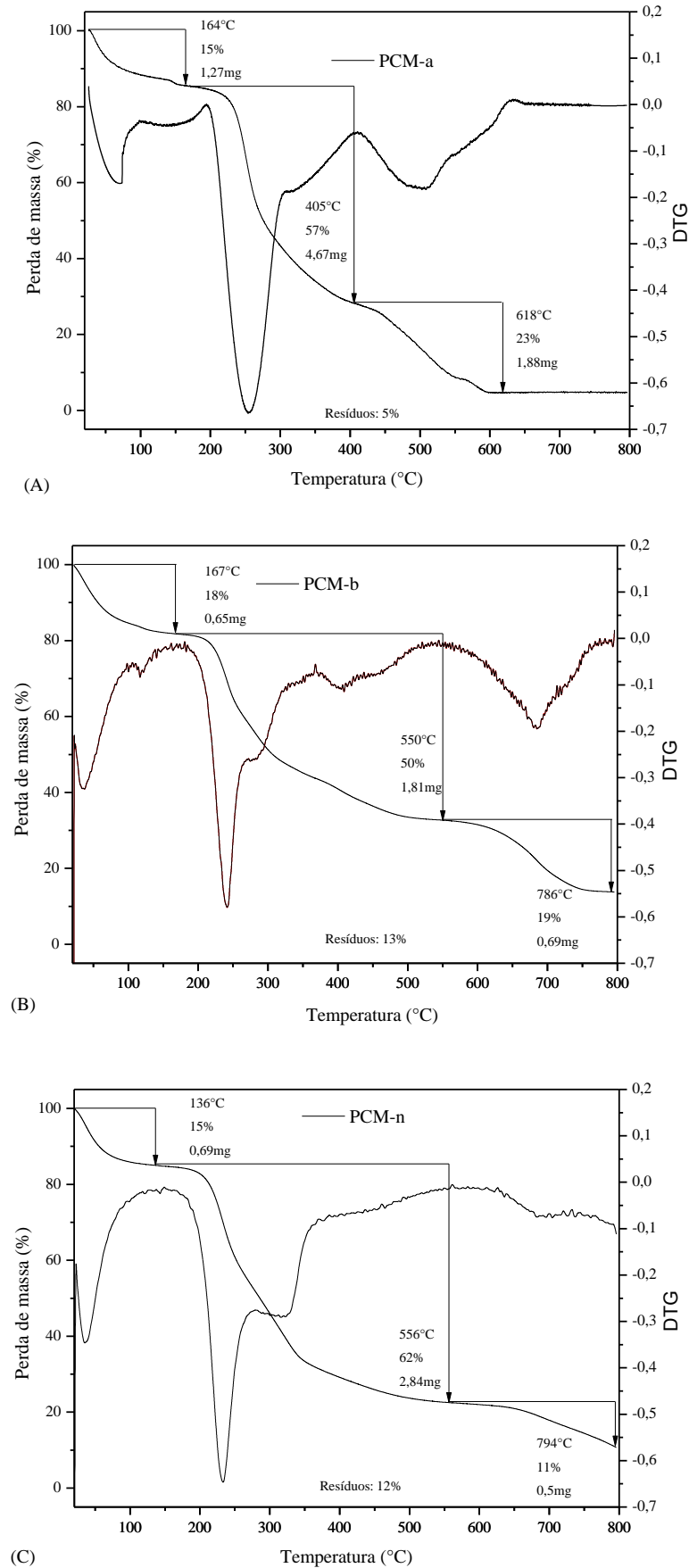
Pode-se observar na Figura 9 que a primeira perda de massa devido a água absorvida para a amostra PCM-b é maior que as demais. Não foram encontrados relatos que atribuam à extração em meio básico um incremento na capacidade de absorção de água de pectinas. No entanto, a amostra de pectina modificada por sulfatação (PCM-as) sofreu um aumento significativo de sua capacidade hidrofílica quando comparada à amostra sem modificação (PCM-a), o que pode ser atribuído à presença dos grupos sulfatos na cadeia de pectina após sulfatação. A amostra PCM-n apresentou comportamento muito similar à amostra PCM-a nesse primeiro passo da degradação.

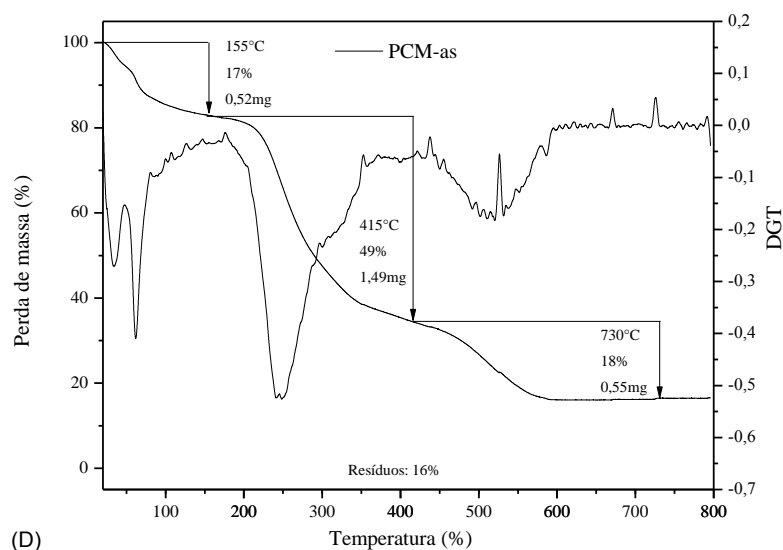
Para o segundo estágio de degradação é importante observar que houve uma significativa redução na perda de massa da amostra PCM-b em relação às outras, devido à saponificação dos grupos carboxílicos (Ralet e Thibault, 2001). O mesmo acontece para a amostra sulfatada em que os grupos carboxílicos são substituídos por ésteres de sulfato, reduzindo portanto a perda de massa por degradação daqueles grupos. Além disso, observa-se uma redução na temperatura de degradação da amostra modificada (PCM-as). Tal observação já foi relatada por Monfregola e colaboradores (2011), para pectinas modificadas quimicamente. Novamente, a amostra PCM-n apresentou nessa etapa, comportamento semelhante à PCM-a, indicando a similaridade estrutural dessas amostras.

O terceiro estágio apresenta importante alteração na temperatura inicial de degradação da amostra PCM-b, em que, enquanto a essa temperatura as outras amostras já encerraram esse estágio, a PCM-b ainda persiste, evidenciando uma maior estabilidade térmica dessa amostra com relação à etapa de oxidação, ou degradação do anel piranosídico (Monfregola *et al.*, 2011).

Na Figura 11 estão as curvas de TGA das amostras analisadas, bem como suas respectivas derivações. As Tabelas 6 a 9 mostram os dados de porcentagem de perda de massa em cada estágio de degradação das amostras de pectina.

Figura 11 - Curvas de TGA das amostras: A - PCM-a; B - PCM-b; C - PCM-n e D - PCM-as.





Fonte: Elaborada pelo autor.

Tabela 6 - Etapas de degradação de PCM-a e perda de massa.

Evento	1	2	3	Resíduos
Massa perdida (mg)	1,27	4,67	1,88	0,42
Massa perdida (%)	15	57	23	5
Faixa de temperatura (°C)	46-164	176-405	410-618	-

Tabela 7 - Etapas de degradação de PCM-b e perda de massa.

Evento	1	2	3	Resíduos
Massa perdida (mg)	0,65	1,81	0,69	0,47
Massa perdida (%)	18	50	19	13
Faixa de temperatura (°C)	40-167	175-550	555-786	-

Tabela 8 - Etapas de degradação de PCM-n e perda de massa.

Evento	1	2	3	Resíduos
Massa perdida (mg)	0,69	2,84	0,5	0,5
Massa perdida (%)	15	62	11	11
Faixa de temperatura (°C)	21-136	137-556	601-794	-

Tabela 9- Etapas de degradação de PCM-as e perda de massa.

Evento	1	2	3	Resíduos
Massa perdida (mg)	0,52	1,49	0,55	0,49
Massa perdida (%)	17	49	18	16
Faixa de temperatura (°C)	38-155	160-415	418-730	-

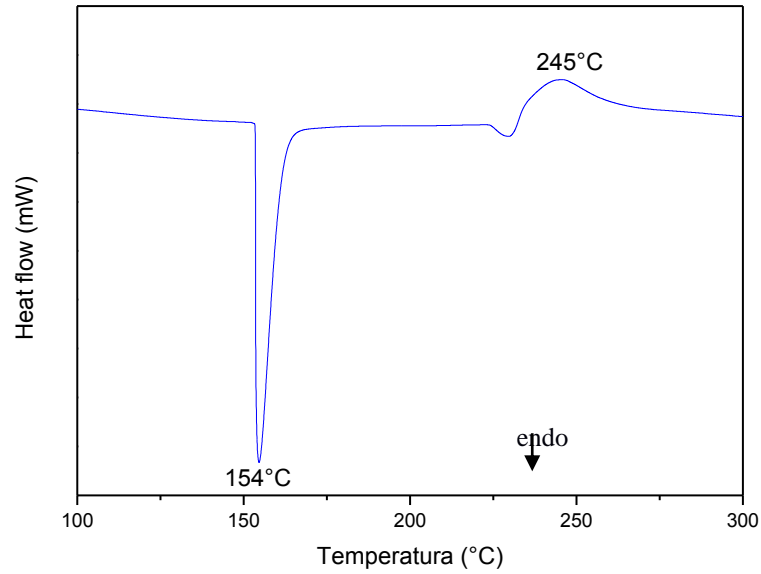
5.2.6 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

O estado físico assim como a estrutura química são fatores essenciais para a aplicação de pectinas devido a seus efeitos, por exemplo, sobre a solubilidade em água alterando os processos de produção de geleias e compotas com o uso de pectinas como agentes gelificantes. Além disso, sua interação e compatibilidade com outros componentes alimentares como proteínas podem sofrer variações.

Na Figura 12 é mostrada a curva de DSC da amostra PCM-a. Essa pectina mostrou um pico endotérmico por volta de 154 °C devido à evaporação de água e um pico exotérmico por volta de 245 °C, correspondente à principal etapa de degradação, como mostrado na literatura (Stoll, *et al.*, 2007; Aguilera *et al.*, 1998) e nos resultados de TGA (Figura 11-A, p. 46). Stoll e colaboradores (2007) atribuem o pico em 154°C a uma transição de fase de uma estrutura cristalina para uma amorfa.

O início do pico endotérmico acima do ponto de ebulição da água pura pode estar relacionado com o aumento de pressão no interior do cadinho devido a evaporação de água. Além disso, o grau de metoxilação também tem sido relatado como um fator que pode influenciar a região de aparecimento do pico endotérmico.

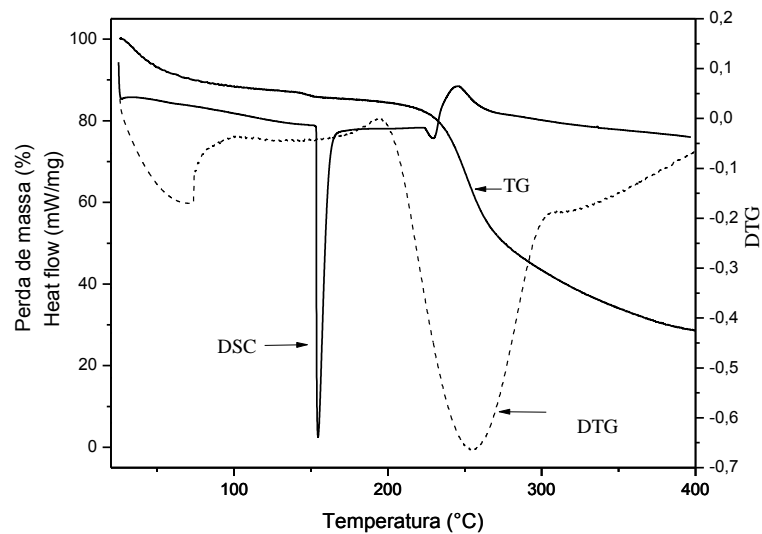
Figura 12- Curva de DSC da amostra PCM-a



Fonte: Elaborada pelo autor

O grau de metoxilação é proporcional à temperatura de degradação da pectina. Foi encontrado na literatura valores de temperatura de degradação por volta de 260 °C para pectinas de alta metoxilação e 242 °C para pectinas com grau de metoxilação de 40.1% (Stoll *et al.*, 2007), valores relativamente próximos ao encontrado nesse trabalho para a pectina extraída em meio ácido com grau de esterificação de 40,9% (Tabela 5, p. 41) e temperatura de degradação de 252 °C, como pode ser observado na curva de DTG para essa amostra (Figura 13).

Figura 13– Degradação térmica da pectina do melão com curvas de DSC, TG e DTG.



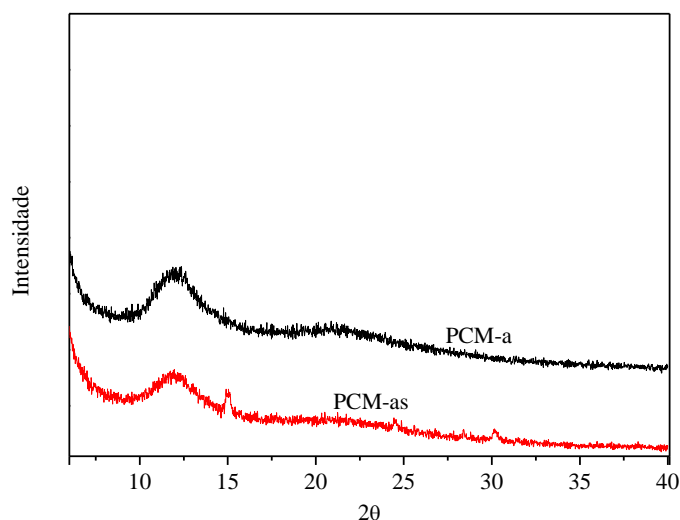
5.2.7 Análise de Dispersão de Raios-X

A análise de dispersão de raio-x pode fornecer um bom entendimento da natureza amorfa e cristalinidade do material estudado.

O difratograma das amostras PCM-a e PCM-as revelaram dois ombros distintos (Figura 14). O primeiro em 12 graus de dois theta é bem expressivo. O segundo em 21,6 graus de dois theta apresenta-se com menor intensidade. Ambos os sinais estão em conformidade com a literatura para caracterizar pectinas. O fato dos sinais serem ombros e não picos, indica que as amostras possuem estrutura amorfa (Monfregola *et. al.*, 2011).

Os pequenos picos que aparecem no sinal da amostra PCM-as revelam que houve alguma modificação no material, no entanto, a estrutura geral do material se conservou. Além disso, esses picos que podem ser observados têm pequena intensidade e não são tão agudos quanto os picos indicativos de cristalinidade. No entanto, a presença desses picos indica que houve um aumento da cristalinidade da pectina após a sulfatação, como tem sido relatado na literatura para pectinas modificadas (Lutz *et al.*, 2009).

Figura 14– Difração de raios-x das amostras PCM-a e PCM-as.



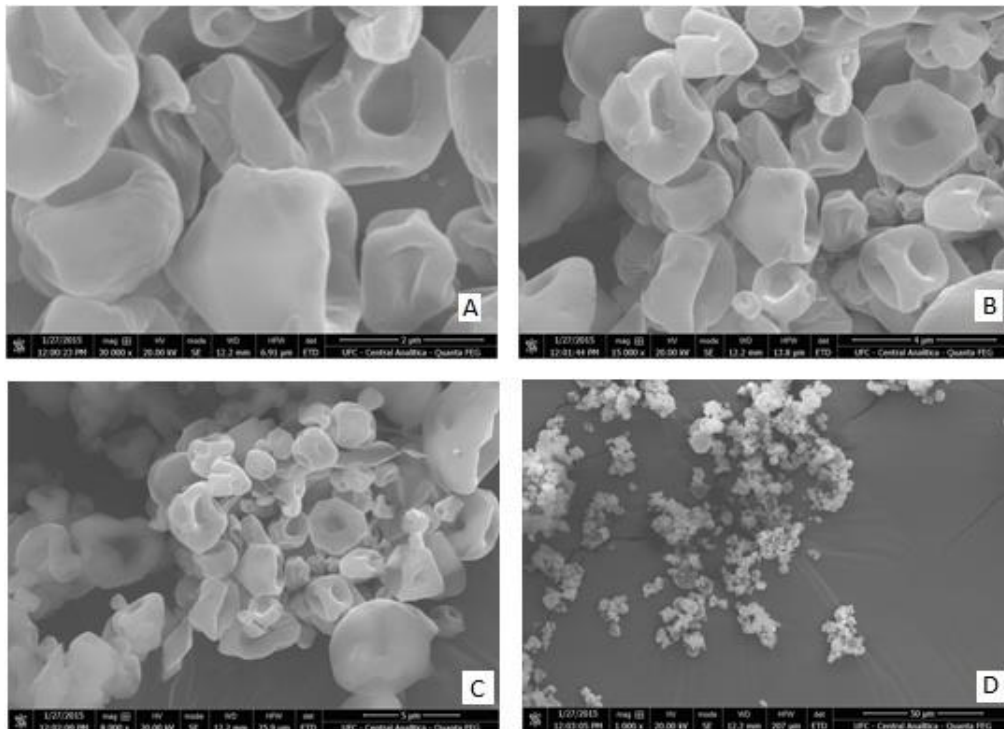
Fonte: Elaborada pelo autor

5.2.8 Análise morfológica da pectina do melão caipira

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) da amostra PCM-a seca por *spray dried* foi feita com o intuito de avaliar a morfologia das partículas obtidas.

As partículas geradas apresentaram formato esférico e irregularidades na superfície, expressos por certos achatamentos. Entretanto, as imagens obtidas (Figura 15) não revelaram indícios de aberturas de poros ou fissuras superficiais. A existência de furos na estrutura do material poderia comprometer seu uso em aplicações como encapsulação de fármacos, por exemplo.

Figura 15 – Micrografias da amostra PCM-a seca por spray dried. Imagens em diferentes ampliações: 30.000x (A); 15.000x (B); 5.000x (C) e 1.000x (D).



Fonte: Elaborada pelo autor

Tem sido relatado que a técnica de *spray dried* pode provocar tais deformações na estrutura do material (Gharsallaoui *et al.* 2010). Essa contração pode ser acentuada quando a secagem é feita a baixa temperatura, tornando mais lenta a difusão do solvente, proporcionando mais tempo para a estrutura deformar, encolher e romper-se (Oakley, 1997). Essa estrutura esférica e achatada é relatada como comum em polissacarídeos. Além disso, não foi feita encapsulação alguma, o que pode ter favorecido a deformação por encolhimento de algumas estruturas.

É possível observar nas imagens que o tamanho das partículas não é uniforme, havendo estruturas bem menores que outras. É necessário a análise do tamanho de partículas para melhor elucidar essa distribuição de tamanhos. A literatura tem mostrado que materiais obtidos por *spray dried* geram micro-partículas com morfologia semelhantes às desse trabalho (Tan *et al.*, 2009).

É necessário, no entanto, ajuste nas condições de secagem com o fim de se obter partículas de tamanhos mais homogêneos e superfícies mais uniformes e circulares. Partículas com essas características são mais eficientes quando usadas para encapsulação de fármacos pois garantem que o material retido não escapará em momento indesejado (Pierucci *et al.*, 2007)..

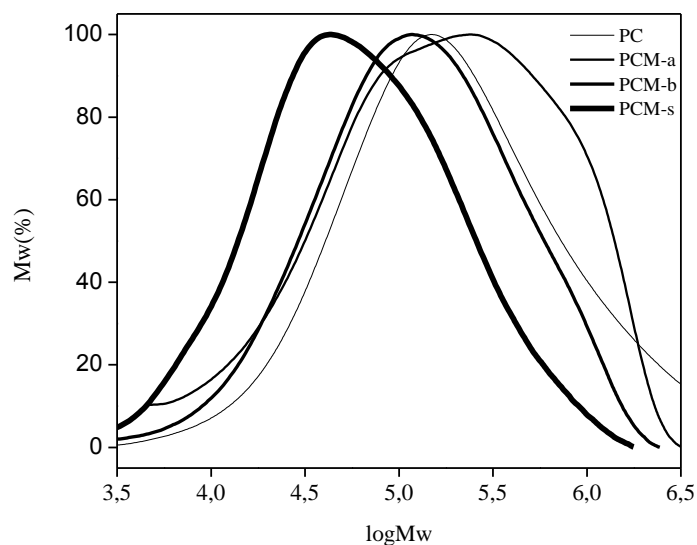
5.2.9 Cromatografia de Permeação em Gel (GPC)

Em 1934 as pectinas foram reconhecidas como cadeias lineares de ácido galacturônico, mas pode apresentar diversas ramificações de polissacarídeos formados por dezessete diferentes monossacarídeos. A homogalacturonana, formada por unidades de ácido galacturônico, é o principal polissacarídeo da parede celular sendo responsável por até 65% do total de pectina. Ligados a essa cadeia principal encontram-se diversos outros polissacarídeos com diferentes tamanhos de cadeia como a ramnogalacturonana I e II que apresentam de 20-35% e 10% da constituição da pectina, respectivamente. Cada um desses polissacarídeos aparece como ramificações existentes em cadeias lineares de oito ou mais unidades de ácido galacturônico (Canteri *et al.*, 2012). Tais ramificações apresentam até 12 diferentes tipos de açúcares.

Toda essa complexidade na constituição das pectinas influencia diretamente o valor de sua massa molecular e a diversidade dos monômeros e seus respectivos polímeros que constituem a cadeia lateral dão a justificativa para seu caráter polidisperso.

Assim, neste trabalho, foram submetidas a essa análise uma amostra de pectina cítrica comercial da marca SIGMA ALDRICH e as amostras PCM-a, PCM-b e PCM-as a fim de se comparar suas características, similaridades e diferenças. A figura 16 ilustra o resultado obtido:

Figura 16 - Curva de GPC para as amostras PC, PCM-a, PCM-as e PCM-b.



Fonte: Elaborada pelo autor

Percebe-se na figura o caráter polidisperso da pectina extraída em diferentes condições. Essa polidispersividade é característica de materiais poliméricos, os quais não apresentam um valor único de massa molecular.

A maior polidispersividade da amostra PCM-a em relação às demais, conforme se observa na Tabela 10, pode ter relação com as condições de extração adotadas.

Tabela 10 - Valores de polidispersividade e massas moleculares calculados pela análise de GPC das amostras PC, PCM-a, PCM-as e PCM-b.

Amostra	M_n^* (10^4) (g/mol)	M_w^{**} (10^5) (g/mol)	Polidispersividade (M_w/M_n)
PC	9,0	4,9	5,5
PCM-a	8,1	4,5	5,6
PCM-as	3,4	1,4	4,1
PCM-b	6,8	2,8	4,1

* M_n – Massa molecular numérica média.

** M_w – Massa molecular ponderal média.

Um meio mais ácido e/ou com temperaturas mais elevadas devem ter sido responsáveis pela degradação da cadeia lateral da pectina comercial (PC), restando uma porção estrutural mais homogênea pela redução da quantidade de estruturas com diferentes massas

moleculares. A condição de extração em pH mais elevado (4,6), bem como, temperaturas mais amenas (80°C) adotadas para a extração da amostra PCM-a pode ter permitido uma menor alteração das cadeias laterais desse polímero, justificando sua polidispersividade.

Apesar da diferença na polidispersividade entre as duas amostras, os resultados apresentaram valores de massas molares bem semelhantes entre as duas. A massa molar ponderal média para a pectina cítrica comercial (PC) foi de $M_w = 4,9 \times 10^5$ g/mol, enquanto que para a pectina do melão caipira (PCM-a) M_w foi de $4,7 \times 10^5$ g/mol. Os valores são condizentes com os encontrados para pectinas cítricas comercialmente aceitáveis (Kar e Arslan, 1999; Corredig e Wicker, 2001).

A massa molecular da pectina sulfatada mostrou-se menor que as demais devido ao processo de modificação química realizado em condições severas devido ao uso de ácido clorossulfônico e temperaturas elevadas os quais causam uma quebra mais intensa do material polimérico.

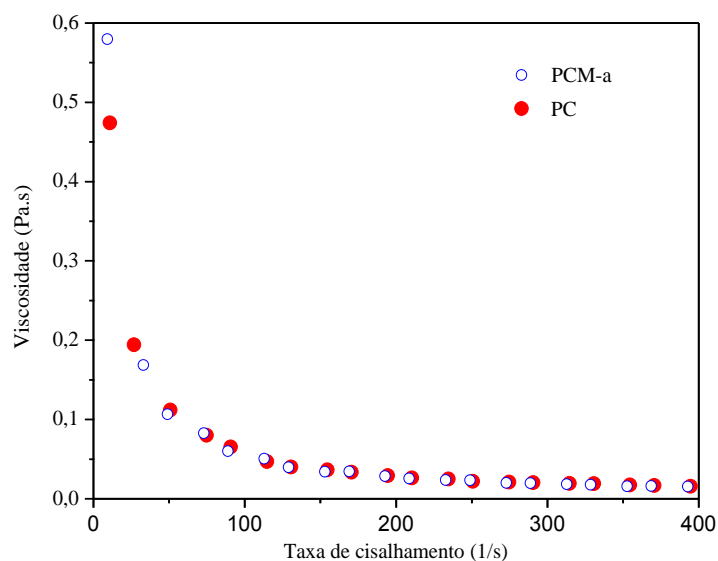
5.2.10 Análise Reológica da pectina do melão

O primeiro cientista a utilizar a palavra reologia foi Eugene C. Bingham para definir a expressão “tudo esco”. Reologia é entendida como a ciência da deformação e do escoamento da matéria, ou seja, é o estudo da forma como os materiais respondem à aplicação de uma determinada tensão ou deformação (Toneli *et al.*, 2005).

Todos os materiais possuem propriedades reológicas, de modo que a reologia é uma ciência que pode ser aplicada em diversas áreas de estudo. O estudo das propriedades reológicas dos alimentos é essencial para várias aplicações que incluem desde projetos e avaliação de processos até o controle de qualidade, a correlação com a avaliação sensorial e a compreensão da estrutura de materiais (Toneli *et al.*, 2005).

O resultado do estudo da reologia da pectina do melão caipira e da pectina cítrica comercial (PC) da marca Sigma Aldrich é mostrado na Figura 17 que permite analisar o comportamento reológico de fluxo das amostras revelando a alteração de sua viscosidade em função da taxa de cisalhamento.

Figura 17 -Reologia da pectina do melão caipira, amostra PCM-a, e da pectina comercial (PC) na concentração de 0,4% a 25°C.



Fonte: Elaborada pelo autor

Percebe-se na Figura 17 que a pectina do melão caipira apresenta comportamento pseudoplástico, em que a viscosidade diminui com o aumento da taxa de cisalhamento. Viscosidade semelhante foi apresentado pela pectina comercial. Soluções de pectina a baixas concentrações possuem caráter newtoniano em que não há mudanças na viscosidade com o aumento da taxa de cisalhamento. Observa-se que mesmo a uma concentração de 0,4% as soluções de pectina mantiveram seu aspecto pseudoplástico, o que pode ser favorável à sua utilização na indústria de alimentos a baixas concentrações.

5.2.11 Potencial Zeta

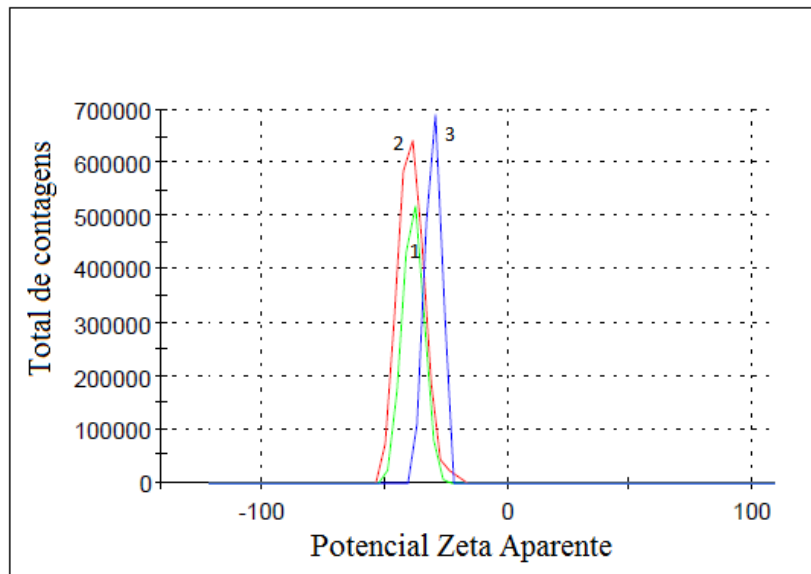
O potencial Zeta é um termo científico usado quando se quer definir potencial eletrocinético em sistemas coloidais. Essa medida tem grande importância em vários ramos da indústria como farmacêutica, medicinal e tratamento de águas. O potencial Zeta é a diferença de potencial entre a dispersão média e a camada estacionária do fluido ligada à partícula dispersada.

Um valor de 30 mV (positivo ou negativo) para o potencial Zeta é um parâmetro comparativo entre superfícies de carga alta e de carga baixa. O potencial Zeta indica a estabilidade de dispersões coloidais, indicando o nível de repulsão entre partículas na solução. Para partículas muito pequenas, um potencial Zeta alto indicará estabilidade, havendo

resistência à agregação por parte da dispersão ou solução. Sendo o potencial baixo, a atração vence a repulsão, resultando em floculação da dispersão. Assim, alto potencial Zeta indica estabilidade elétrica do coloide. O divisor entre estáveis e instáveis é de + ou - 30 mV.

O resultado das análises do potencial zeta para as amostras de pectina do melão caipira extraída nas condições básica e neutra, bem como, a amostra sulfatada, são mostradas na Figura 18. As análises foram realizadas em triplicata.

Figura 18- Distribuição do Potencial Zeta das amostras: 1 - PCM-as; 2 - PCM-b e 3 - PCM-n.

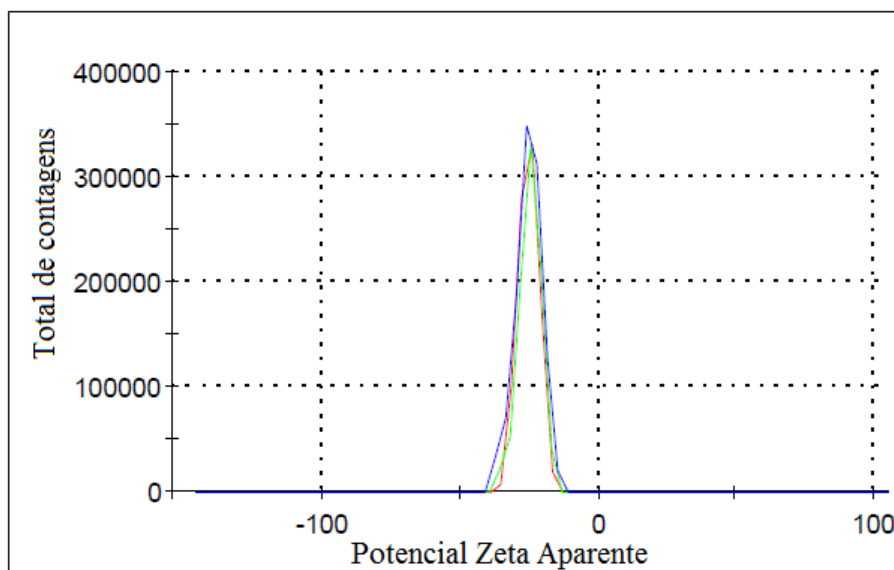


Fonte: Gráfico gerado pelo software próprio do equipamento Zetasizer Nano

As amostras PCM-as, PMC-b e PCM-n apresentaram elevados valores de Potencial Zeta, sendo de -38,4, -39,9 e -30,3, respectivamente. Todas as amostras apresentaram carga negativa, revelando o caráter aniônico do polímero.

O Potencial Zeta para a amostra extraída em meio ácido está representado na Figura 19 a seguir.

Figura 19 – Distribuição do Potencial Zeta da amostra PCM-a.



Fonte: Gráfico gerado pelo software próprio do equipamento Zetasizer Nano (Zetasizer, 2014)

De acordo com os dados apresentados acima a pectina extraída em meio ácido apresenta estabilidade em solução próxima do esperado (+ ou - 30 mV), com potencial Zeta igual a -25,3 mV. Isto significa que quando em solução aquosa, as partículas de pectina do melão sob as condições de temperatura 25 °C (temperatura da análise do potencial Zeta) terão maior resistência à agregação e a floculação e a dispersão será mais difícil.

O valor negativo em -25 mV revela o caráter negativo das partículas de pectina do melão na solução, como também foi observado para as amostras PCM-b e PCM-n, dando indícios de que se tratam de materiais semelhantes.

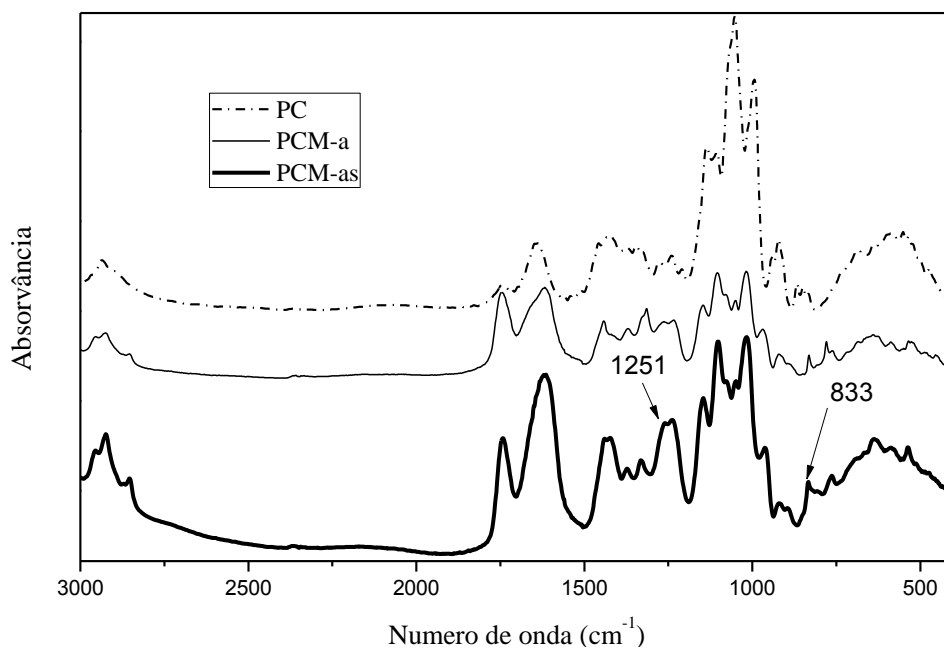
5.3 Sulfatação da pectina

Existe uma estreita relação entre as propriedades estruturais de pectinas e suas atividades biológicas. Nesse sentido, comumente são feitas modificações que podem melhorar essas atividades. Sulfatação constitui uma das alterações na estrutura química das pectinas que consiste da substituição de grupos carboxílicos por ésteres de sulfato. Tal modificação potencializa as diversas atividades desse polissacarídeo tais como anticoagulante, antitrombótica, antimicrobiana, como relatado em outros trabalhos (Bae *et al.*, 2009; Ono *et al.*, 2003).

Por meio de bandas características mostradas na análise de FT-IR, foi possível confirmar a presença de grupos sulfato na estrutura da amostra PCM-as obtida da modificação por sulfatação da amostra PCM-a.

As bandas características do material sulfatado correspondem aos valores de 833 cm^{-1} e 1251 cm^{-1} (Figura 21), para vibrações características de ligação C-O-S e S=O respectivamente, cujos valores têm como referência as absorvâncias em 828 cm^{-1} e 1260 cm^{-1} encontradas por Bae e colaboradores (2009). Tais valores não aparecem, como é o caso da banda em 1260 cm^{-1} , ou aparecem de maneira muito suave (banda em 833 cm^{-1}) quando a pectina é analisada antes da reação de sulfatação, conforme pode ser observado na Figura 20 para o espectro da amostra PCM-a.

Figura 20- FT-IR das amostras PC, PCM-a e PCM-as



Fonte: Elaborada pelo autor.

Apesar de exitoso o procedimento de sulfatação, a presença de grupos ésteres na análise revela que houve um baixo grau de sulfatação. Além disso, a banda em 833 cm^{-1} (ligações C-O-S) praticamente não sofreu alteração, o que reforça a pouca sulfatação do material. Esse fato pode ser atribuído às condições de realização do experimento que além de atmosfera inerte, exige que o ácido possa ser gotejamento de maneira controlada para evitar deterioração do material. Uma solução seria melhorar as condições instrumentais utilizadas em laboratório, como a utilização de um sistema onde haja o estabelecimento de um ambiente inerte com atmosfera de nitrogênio e que o gotejamento seja feito por meio de uma vidraria mais

apropriada. Dessa forma, é importante que esse experimento seja melhor trabalhado em momentos futuros com o intuito de elevar o grau de sulfatação. Apesar dos valores obtidos, é importante ressaltar que o material precisa ser testado com o intuito de avaliar sua eficiência com o nível de sulfatação obtido no momento, e com isso verificar se realmente a sulfatação foi suficiente para adquirir os resultados esperados por exemplo, na aplicação do material como anticoagulante.

5.4 Análise elementar

Como mostrado na Tabela 11, o conteúdo de enxofre obtido da análise elementar foi de 1,82%. Portanto, os espectros de FT-IR, bem como, análise elementar confirmam que derivado de pectina sulfatada foi obtido com sucesso a partir da amostra PCM-a.

Tabela 11- Constituintes Básicos da pectina do melão caipira.

Amostras	Carbono (%)	Enxofre (%)	Nitrogênio (%)	Hidrogênio (%)
PCM-a	36,73	-	0,93	5,69
PCM-as	34,63	1,82	0,77	6,62

Fonte: Elaborada pelo autor

Percebe-se que o percentual de carbono diminuiu de 36,73% antes da sulfatação para 34,63% após a reação, sugerindo que houve substituição de grupos ésteres metílicos por ésteres de sulfato. A redução na porcentagem de nitrogênio pode ser atribuída ao processo de diálise usando para a purificação da amostra. Além disso, revela que a diálise (120 h com duas trocas diárias) foi eficiente no sentido de retirar o teor de nitrogênio proveniente dos reagentes usados no processo de sulfatação. O aumento no teor de hidrogênio pode estar relacionado à absorção de água pela amostra devido ao aumento de sua hidrofiliabilidade após a sulfatação.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Foi possível constatar que o melão é uma fruta muito apreciada no mundo, possui grande produção e comercialização no Brasil, especialmente na Região Nordeste, no entanto, o pequeno agricultor, não dispendo de recursos técnicos suficientes, produz pouco para fins de exportação, ficando com o mercado interno que é menos lucrativo.

Diante disso, o isolamento de substâncias como a pectina, que é um polissacarídeo muito utilizado como aditivo em alimentos como bolos e pães ou na produção de geleias, mostrou-se como uma alternativa para valorizar esse fruto e aumentar os lucros dos produtores. Essas substâncias também podem ser modificadas quimicamente, como por sulfatação, para possibilitar seu uso na indústria farmacêutica, como possível anticoagulante.

O melão caipira, espécie de expressiva facilidade de cultivo, mas de baixo valor comercial e de pouca preferência entre os consumidores, foi escolhido para extração e sulfatação da pectina de sua polpa.

Fruto ainda não estudado nesse sentido, o melão caipira, apresentou boas quantidades de pectinas em sua estrutura, chegando a 10% da massa seca de polpa, o que é muito positivo se comparado aos rendimentos das principais fontes alternativas de pectinas como bagaço de maçã e polpa de beterraba, que varia de 15% a 20.

As análises de RMN ^1H , FT-IR, e Titulação Potenciométrica, mostraram que a pectina do melão caipira é de baixo Grau de Esterificação (GE), cujo valor foi de 42%, tornando a fruta uma fonte de pectina que pode ser utilizada em dietas de baixa caloria, por não precisar de adição de açúcar para gelificar.

A análise térmica feita por TG e DSC, revelou que a pectina do melão se degrada em três etapas, apresentando 15% de perda de massa na primeira etapa, devido à absorção de água. A segunda etapa de degradação mostrou que o material apresenta boa estabilidade térmica, atingindo 57% de perda de massa em 248 °C. A última etapa apresentou uma perda de massa de 23%, devido à quebra do anel piranosídico. O conteúdo de cinzas do material foi de 5%, dentro da margem de pureza comercialmente aceitável para pectinas, que varia de 3% até 7%, mostrando a eficiência do método de extração e purificação.

A análise de GPC revelou que o material apresenta massa molecular de $4,5 \times 10^5$ g/mol, dentro do tamanho previsto na literatura que é acima de 1×10^5 g/mol.

O estudo reológico mostrou que o material apresenta comportamento pseudoplástico, com valores crescentes de viscosidade à medida que a ele se imprime valores maiores de taxa de cisalhamento.

Estudos com potencial Zeta revelaram que dispersões coloidais do material apresentam boa estabilidade, com valor de $-25,3\text{mV}$.

A Análise Elementar confirmou que a reação de sulfatação foi realizada com sucesso, apresentando um teor de enxofre de 1,82% após experimento, contra zero por cento, na amostra não sulfatada.

Conclui-se que o melão caipira se mostra como uma fonte importante de pectinas de baixo grau de esterificação que pode ser utilizada na indústria alimentícia e que sua sulfatação pôde ser realizada possibilitando que testes sejam feitos para possíveis aplicações na indústria farmacêutica.

REFERÊNCIAS

- AGUILERA, J.M.; Cuadros T.R.; Valle, J.M. del. Differential scanning calorimetry of low-moisture apple products. *Carbohydrate Polymers*, v. 37, p. 79–86. 1998.
- ALKORTA, I.; Garb, C.; Llama, M. J.; Serra, J. L. Industrial applications of pectic enzymes: a review. *Process Biochemistry*. Spain, v. 33, n. 1, p. 21-28.
- ANGER, H.; Berth, G. Gel permeation chromatography and Mark-Houwink relation for pectins with different degrees of esterification. *Carbohydrate Polymers*, v. 6, p. 193–202. 1986.
- BAE, I. Y.; Joe, Y. N.; Rha, H. J.; Lee, S.; Yoo, S.-H; Lee, H. Effect of sulfation on the physicochemical and biological properties of citrus pectins. *Food Hydrocolloids*. v. 23, p. 1980-1983. 2009.
- BALDIN, E. L. L; Caetano, A. C.; Lara, F. M. Atração e desenvolvimento de *Leptoglossus gonagra* (Fabr.) (Hemiptera: Coreidae) em cultivares de abóbora e moranga. *Scientia Agricola*, v. 59, n. 1, Piracicaba. 2002.
- BÉDOUET, L.; Courtois, B.; Courtois, J. Rapid quantification of O-acetyl and O-methyl residues in pectin extracts. *Carbohydrate Research*, v. 338, p. 379-383, 2003.
- BISOGNIN, D.A. “Origin and evolution of cultivated cucurbits”. *Ciência Rural*, v. 32, n. 4, Santa Maria, jul./ago. 2002.
- BOCHEK, A. M.; Zabivalova, N. M.; Petropavlovskii. Determinação do Grau de Esterificação de Ácido Poligalacturônico. *Russian Journal of Applied Chemistry*, v. 74, n. 5. St Petersburg, p. 796-799.2001
- BRITO, A. S. *Potencial terapêutico de um heparinóide isolado do invertebrado marinho Litopenaeus vannamei*. (Dissertação de mestrado). Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal-RN, 2008.
- CAMERON, R. G.; Luzio, G. A.; Goodner, K.; Williams, M. A. K. Demethylation of a model homogalacturonan with a salt-independent pectin methylesterase from 116 citrus: I. Effect of pH on demethylated block size, block number and enzyme mode of action. *Carbohydrate Polymers*, v. 71, n. 2, p. 287 – 299, 2008.
- CAMPBELL, A. M.; Penfield, M. P.; Griswold, R. M. *The experimental study of food*. 2nd edition. Boston: Houghton Mifflin Company, 513p, 1979
- CANTERI, M. H. G.; Moreno, L.; Wosiacki, G.; Scheer, Agnes de P. Pectina: da matéria prima ao produto final. *Polímeros*, v. 22, n. 2, p. 149-157, 2012.
- CÁRDENAS, A.; Goycoolea, F. M.; Rinaudo, M. On the gelling behaviour of ‘nopal’ (*Opuntia ficusindica*) low methoxyl pectin. *Carbohydrate Polymers*, 73, 212. 2008.
- CHEN, J.-Q; Shaoa, Y.-F; Yanga, Z.; Yanga, H.; Chenga, R.-S. Analysis of viscosity abnormalities of polyelectrolytes in dilute solutions. *Chinese Journal of Polymer Science*, v. 29 n° 6, p. 750-756. 2011.

CHEN, T.-S.; Joslyn, M. A. The Effect of Sugars on Viscosity of Pectin Solutions - comparison of Dextrose, Maltose, and Dextrins. *Journal of Colloid and Interface Science*, v. 25, p. 346—352. 1967.

CORREDIG, M.; Wicker, L. Changes in the molecular weight distribution of three commercial pectins after valve homogenization. *Food Hydrocolloids*, v. 15, p. 17-23. 2001.

CRISÓSTOMO, L. A.; Santos, A. A. dos.; Haji, B. V ; Faria, C. M. B. de; Silva, D. J. da; Fernandes, F. A. M; Santos, F. J. de S; Crisóstomo, J. R ; Freitas, J. de A. D. de; Holanda, J. S. de; Cardoso, J. W; Costa, N. D. Adubação, irrigação, híbridos e práticas culturais para o meloeiro no Nordeste. *EMBRAPA (Circular Técnica, 14)*, Fortaleza-CE, 21p., 2002.

DOMINGOS, P. F. Almeida. *Cucurbitáceas hortícolas*. Faculdade de Ciências. Universidade do Porto, 2002.

EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. *Banco ativo de germoplasma de cucurbitáceas da Embrapa clima temperado*. Período de 2002 a 2006. Pelotas, RS – 2010.

_____. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Sistema de produção de melão. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Melao/SistemaProducaoMelao/socioeconomia.html#topo>> Acesso em: 05 Nov. 2014.

FELLAH, A.; Anjukandi, P.; Waterland, M. R.; Williams, M. A. K. Determining the degree of methylesterification of pectin by ATR/FT-IR: methodology optimization and comparison with theoretical calculations. *Carbohydrate Polymers*, v. 78, p. 847-853.2009.

FIETZ, V. R.; Salgado, J. M. Efeito da pectina e da celulose nos níveis séricos de colesterol e triglicerídeos em ratos hiperlipidêmicos. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* Campinas, v. 19, n. 3, dez. 1999.

GHARSALLAOUI, A.; Saurel, R.; Chambin, O.; Cases, E.; Voilley, A. and Cayot, P. Utilisation of pectin coating to enhance spray-dry stability of pea protein-stabilised oil-in-water emulsions. *Food Chemistry*, v. 122, p. 447-454.2010.

HÁ, M.-A.; Vietor, R. J.; Jardine, G. D.; Apperley, D. C.; Jarvis, M. C. Conformation and mobility of the arabinan and galactan side-chains of pectin. *Phytochemistry*, v. 66, p. 1817–1824. 2005.

IBRAF. Frutas frescas. Disponível em: <http://www.ibraf.org.br/estatisticas/est_frutas.asp> Acesso em: 05 Out. 2014.

IGLESIAS, M.T.; Lozano, J.E. Extraction and characterization of sunflower pectin. *Journal of Food Engineering*, v. 62, Issue 3, p. 215–223. 2004.

JOSEPH, B.; Jini, D. Antidiabetic effects of *Momordica charantia* (bitter melon) and its medicinal potency. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, v. 3(2), p. 93-102. 2013.

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

- KAR, F.; Arslan, N. Effect of temperature and concentration on viscosity of orange peel pectin solutions and intrinsic viscosity–molecular weight relationship. *Carbohydrate Polymers*, v. 40, p. 277-284. 1999.
- KARAKAYA, S.; Kavas, A.; El, S. N.; Gündüç, N.; Akdogan. Nutritive value of a melon seed beverage. *Food Chemistry*, v. 52, p. 139-141. 1995.
- KIM, B.-S.; Mather, P. T. Amphiphilic telechelics with polyhedral oligosilsesquioxane (POSS) end-groups: Dilute solution viscometry. *Polymer*, v. 47, p. 6202-6207. 2006.
- KOUBALA, B.B; Kansci, G.; Mbome, L.I; Crépeau, M.-J.; Thibault, J.-F.; Ralet, M.-C. Effect of extraction conditions on some physicochemical characteristics of pectins from “Améliorée” and “Mango” mango peels. *Food Hydrocolloids*, 22, p. 1345-1351.2008.
- LEVIGNE, S.; Ralet, M.-C.; Thibault, J.-F. Characterisation of pectins extracted from fresh sugar beet under different conditions using an experimental design. *Carbohydrate Polymers*, v. 49, p. 145-153. 2002.
- LUTZ, R.; ASERIN, A.; WICKER, L.; GARTI, N. Structure and physical properties of pectins with block-wise distribution of carboxylic acid groups. *Food Hydrocolloids*, v. 23, p.786-794, 2009.
- MAIA, L. K. R.; Lima, R. E. M. e Lima, J. S. *Importância do meloeiro e aspectos relacionados à resistência a Rhizoctonia Solani*. Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer – Goiânia, v.9, n. 17, p. 1611. 2013.
- MALLICK, M. F. R.; Masui, M. Origin, distribution and taxonomy of melons. *Scientia Horticulturae*, v. 28, p. 251-261. 1986.
- MARTINEZ, R. M. *Preparação e caracterização de partículas coloidais de pectina cítrica e de peptonas vegetais para aplicação em cosméticos*. (Dissertação de mestrado). Universidade Estadual de Campinas. Campinas-SP, 2013.
- MIGUEL, Ana Carolina Almeida; Albertini, Silvana; Begiato, Gabriela Fernandes; Dias, João Ricardo Pecine Stein; Spoto, Marta Helena Fillet. Aproveitamento agroindustrial de resíduos sólidos provenientes do melão minimamente processado. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 28 (3), p. 733-737. Campinas, 2008.
- MONFREGOLA, L.; Bugatti, V.; Amodeo, P.; Luca, E. de.; Vittoria, V. Physical and water sorption properties of chemically modified pectin with an environmentally friendly process. *Biomacromolecules*, v. 12, p. 2311-2318. 2011.
- NEPA, Núcleo de estudos e pesquisa em alimentação. *Tabela Brasileira de Composição dos Alimentos*. 4ª Ed. Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP. São Paulo, 2011.
- O’NEILL, A. N. Sulphated derivatives of laminarin. *Can. J. Chem.* 33, 1097–1101. 1955
- OAKLEY, D. E. Produce uniform particles by spray-drying. *Chemical Engineering oil-in-water emulsions*. *Food Chemistry*, v. 122, p. 447-454.2010.

ONO, Lucy; Wollinger, Wagner; Rocco, Iray M.; Coimbra, Terezinha L.M.; Gorin, Philip A.J.; Sierakowski, Maria-Rita. In vitro and in vivo antiviral properties of sulfated galactomannans against yellow fever virus (BeH111 strain) and dengue 1 virus (Hawaii strain). *Antiviral Research*, v. 60, p. 201–208. 2003.

PIEIDADE, J.; Canniatti-Brazaca, Guidolin, S. Comparação entre o efeito do resíduo do abacaxizeiro (caules e folhas) e da pectina cítrica de alta metoxilação no nível de colesterol sanguíneo em ratos. *Ciência. Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 23(2), p. 149-156. 2003.

PIERUCCI, A. P.; Andrade, L. R.; Farina, M.; Pedrosa, C. and Rocha-Leão, M. H. Comparison of α -tocopherol microparticles produced with different wall materials: pea protein a new interesting alternative. *Journal of Microencapsulation*, v. 24, p. 201-213. 2007.

PINHEIRO, E. R.; Silva, I. M.D.A.; Gonzaga, L. V.; Amante, E. R.; Teófilo, R. F.; Ferreira, M. M.C.; Amboni, R. D.M.C. Optimization of extraction of high-ester pectin from passion fruit peel (*Passiflora edulis flavicarpa*) with citric acid by using response surface methodology. *Bioresource Technology*, v. 99, p. 5561–5566. 2008.

POSÉ, S.; Kirby, A. R.; Mercado, J. A.; Morris, V. J.; Quesada, M. A. Structural characterization of cell wall pectin fractions in ripe strawberry fruits using AFM. *Carbohydrate Polymers*, v. 88, p. 882-890. 2012.

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

REDGWELL, R. J.; MacRae, E.; Hallett, I.; Fischer, M.; Perry, J.; Harker, R.. *In vivo* and *in vitro* swelling of cell walls during fruit ripening. *Planta*, v. 203, p. 162-173. 1997.

RODRÍGUEZ, R.; Jiménez, A.; Bolaños, F. J.; Guilén, R.; Heredia, A. Dietary fibre from vegetable products as source of functional ingredients. *Food Science & Technology*, v. 17, p. 3–15. 2006.

ROSENBOHM, C; Lundt, I; Christensen, T. M.I.E; Young, N. W. G. Chemically methylated and reduced pectins: preparation, characterisation by ¹H NMR spectroscopy, enzymatic degradation, and gelling properties. *Carbohydrate Research*, v. 338, pp. 637–649, 2003.

SILVERSTEIN, R. M.; Webster, F. X. *Spectrometric Identification of Organic Compounds*. 6th Ed. John Wiley & Sons, Inc. 1996.

SINGTHONG, J.; Cui, S. W.; Ningsanond, S.; Goff, H. D. Structural characterization, degree of esterification and some gelling properties of Krueo Ma Noy (*Cissampelos pareira*) pectin. *Carbohydrate Polymers*, v. 58, p. 391–400. 2004.

SRIVASTAVA, P.; Malviya, R. Sources of pectin, extraction and its applications in pharmaceutical industry – An overview. *Indian Journal of Natural Products and Resources*, v. 2(1), p. 10-18. 2011.

STOLL, U. E.; Kunzek, H.; Dongowski, G. Thermal analysis of chemically and mechanically modified pectins. *Food Hydrocolloids*, v. 21, p. 1101-1112. 2007.

- STOLL, U. E.; Kunzek, H.; Dongowski, G. Thermoanalytical characterisation of processing-dependent structural changes and state transitions of citrus pectin. *Food Hydrocolloids*, v. 23, p. 40-52. 2009.
- TABOADA, E.; Fisher, P.; Jara, R.; Zuniga, E.; Gidekel, M.; Cabrera, J. C.; Pereira, E.; Moraga, A.G.; Villalonga, R.; Cabrera, G. Isolation and characterisation of pectic substances from murta (*Ugni molinae* Turcz) Fruits. *Food Chemistry*, v. 123, p. 669, 2010.
- TAN, L. H., Chan, L. W.; Heng, P. W. S. Alginate/starch composites as wall material to achieve microencapsulation with high oil loading. *Journal of Microencapsulation*, v. 26, p. 263-271. 2009.
- THAKUR, B. R.; Singh, R. K.; Handa, A.V. Chemistry and uses of pectin – A Review, Critical Reviews in *Food Science and Nutrition*, v. 37, n.1, 1997.
- TONELI, J. T. C. L; Murr, F. E. X; Park, k. J. Estudo da reologia de polissacarídeos utilizados na indústria de alimentos. *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais*. Campina Grande, Especial, v. 7, n. 2, p. 181-204. 2005.
- 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.
- VRIESMANN, L. C.; Petkowicz, C. L. de O. Polysaccharides from the pulp of cupuassu (*Theobroma grandiflorum*): Structural characterization of a pectic fraction. *Carbohydrate Polymers*, v. 77, p. 72–79. 2009.
- WINNINGA, H.; Vierecka, N.; Nørgaarda, L.; Larsenb, J.; Engelsena, S. B. Quantification of the degree of blockiness in pectins using ¹H NMR spectroscopy and chemometrics. *Food Hydrocolloids*, v. 21, p. 256–266. 2007.
- YEOH, S.; Shi, J.; Langrish, T. A. G. Comparisons between different techniques for water-based extraction of pectin from orange peels. *Desalination*, v. 218, p. 229–237. 2008.
- ZETASIZER Nano Séries. User Manual. MAN0317, v. 1.1, 2004.
- ZYKWINSKA, A.; Mouro, C. R.; Garnier, C.; Thibault, J.–F.; Ralet, M.–C. Alkaline extractability of pectic arabinan and galactan and their mobility in sugar beet and potato cell walls. *Carbohydrate Polymers*, v. 65, p. 510–520. 2006.