

## ISOLAMENTO DE PECTINA DE ABÓBORA (*CUCURBITA MOSCHATA, L.*) POR HIDRÓLISE ÁCIDA

José R. R. Souza<sup>1</sup>, Nágila M. P. S Ricardo<sup>1</sup>, Edy S. Brito<sup>2</sup>, Regina C. M. de Paula, Judith P. A. Feitosa<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, Laboratório de Polímeros, Universidade Federal do Ceará – UFC, Campus do Pici, Fortaleza-CE

<sup>2</sup> Embrapa Agroindústria Tropical, Campus do Pici, Fortaleza-Ce - [judith@dqi.ufc.br](mailto:judith@dqi.ufc.br)

A abóbora (*Cucurbita moschata, L.*) constitui uma excelente fonte de carotenóides, precursores da vitamina A de baixo custo. Além disso, é uma ótima fonte natural e de baixo-custo de pectina. Pectina é um polissacarídeo heterogêneo complexo encontrado na parede celular primária da maioria das células e cujo efeito na saúde está recebendo interesse crescente. Neste trabalho, pectina de alta metoxilação foi obtida da abóbora (*Cucurbita moschata, L.*) através da metodologia de hidrólise ácida. A pectina obtida foi caracterizada por FTIR, RMN <sup>1</sup>H, GPC e Reologia.

**Palavras-chave:** pectina, abóbora, *Cucurbita moschata*, polissacarídeo.

### *Isolation of pectin from pumpkin (Cucurbita moschata, L.) by acid hydrolysis*

Pumpkin (*Cucurbita moschata, L.*) constitutes an excellent source of carotenoids, precursors of vitamin A. Besides, it also that constitutes also a great natural source of low-cost pectin. Pectin is a heterogeneous complex polysaccharide found in the primary cell wall of most plants and its effect on health is receiving increasing interest from the scientific community. In this work, high-methoxy pectin was obtained from pumpkin (*Cucurbita moschata, L.*) through the acid hydrolysis methodology. The pectin obtained was characterized by FTIR, NMR <sup>1</sup>H, GPC and rheology.

**Keywords:** pectin, pumpkin, *Cucurbita moschata*, polysaccharide.

### Introdução

A abóbora (*Cucurbita moschata, L.*) constitui uma excelente fonte de carotenóides, precursores da vitamina. É também uma fonte de pectina de baixo custo<sup>1,2</sup>. Sob a forma desidratada, a abóbora pode ser conservada por mais tempo e utilizada em várias preparações culinárias, contribuindo com mais uma opção alimentícia para combater a hipovitaminose A, que afeta milhares de crianças no Brasil e no mundo.

Pectina é um componente multifuncional abundante das paredes celulares de todas as plantas<sup>3</sup>. Polissacarídeos pécticos consistem, em sua maioria, de polímeros ricos em ácido galacturônico, contendo quantidades significativas de ramnose, arabinose e galactose assim como outros 13 diferentes monossacarídeos<sup>4</sup>. Os três maiores polissacarídeos atualmente definidos são a homogalacturonana, ramnogalacturonana I e ramnogalacturonana II<sup>4,5</sup>.

A composição, estrutura, e propriedades fisiológicas da pectina podem ser influenciadas pelas condições de extração assim como pela fonte, localização e muitos outros fatores ambientais. A rede de pectina deve ser partida para que ocorra a extração. Isto pode envolver extração com agentes quelantes de cálcio, bases diluídas ou ainda ácidos diluídos. Alternativamente, fragmentos

de polissacarídeos pécnicos podem ser liberados através do uso de degradação enzimática. Pectinas são tipicamente extraídas de frutas cítricas e do bagaço de maçã<sup>5</sup>.

Pectina é tradicionalmente usada como agente geleificante para geléias e marmeladas. Ela é listada entre os ingredientes de muitos produtos alimentícios (EU code, E440). O consumo anual mundial é estimado ser em torno de 45.000 toneladas métricas<sup>3</sup>. Pectinas também oferecem benefícios à saúde. Por exemplo, elas estão sendo cada vez mais reconhecidas como importantes precursores de substratos para funções e estruturas gastrointestinais. Alimentos ricos em fibras são usualmente recomendados para diabéticos, pois são capazes de reduzir a resposta glicêmica aos alimentos e, conseqüentemente, reduzir a necessidade de insulina<sup>6</sup>.

## **Experimental**

### *Extração da pectina*

Para extração da pectina, uma massa de aproximadamente 5 kg de polpa da abóbora foi prensada em uma prensa *expeller*. Foram extraídos dois tipos de resíduos: um mais fino que foi obtido por filtração do suco (aprox. 209 g), e um mais grosso que foi descartado. A massa fina foi seca em estufa a 60 °C por 12 h formando uma pasta que foi usada para o procedimento de extração. Para extração através de hidrólise ácida, 2 L de solução HCl 0,1 M foi estabilizada a 65 °C e em seguida, 200 g de pasta de abóbora foi adicionado para extração ácida por 2 h. Após precipitação em etanol PA (1:10 - solução:etanol), filtração e secagem, foram obtidos 4,7 g de pectina.

### *Infravermelho (IV)*

Os espectros foram feitos em pastilhas de KBr em um espectrofotômetro FTIR Shimadzu 8300.

### *Ressonância magnética nuclear (RMN $H^1$ )*

O espectro foi obtido em solução D<sub>2</sub>O% (m/v) a 70 °C em um Espectrômetro Bruker DRX500.

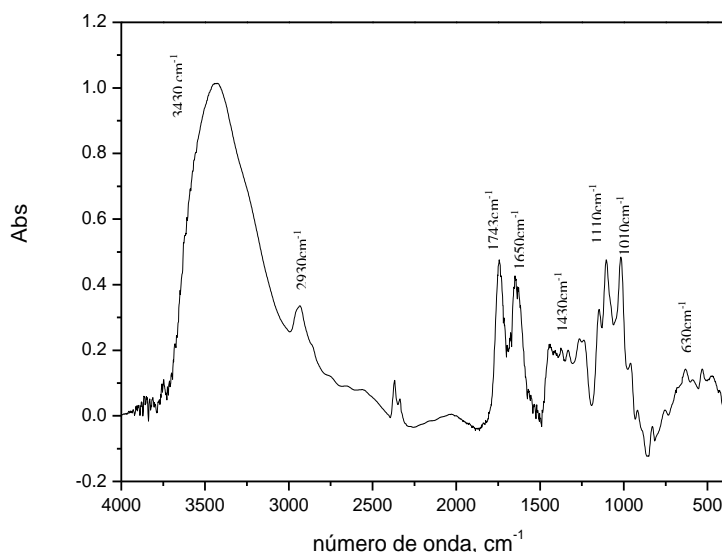
### *Propriedades Reológicas*

Todas as propriedades reológicas foram realizadas no Advanced Rheometer AR550 (DP Union). Uma geometria cone-e-placa (40 mm de diâmetro e ângulo de 0° 59' 1'') foi usada para as medidas de fluxo contínuo. A viscosidade de fluxo contínuo foi determinada a 25 °C na faixa de cisalhamento de 1-100 s<sup>-1</sup>.

## Resultados e Discussão

### *Espectroscopia no Infravermelho*

O grau de metilação (GM) é definido como a quantidade de grupos éster comparado a quantidade total de grupos de ácidos e ésteres carboxílicos. Uma visão geral do espectro de IV da pectina é apresentada na Figura 1. A região “impressão digital” do espectro (até aprox. 2000  $\text{cm}^{-1}$ ) inclui a região de 1200-1800  $\text{cm}^{-1}$  como mostrado.

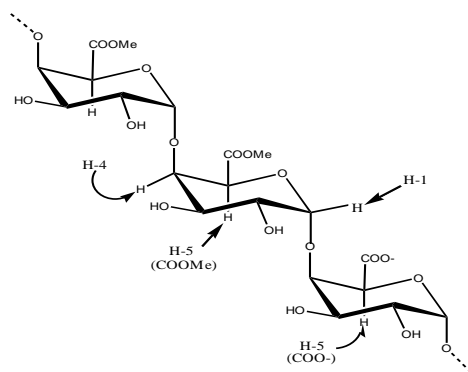


**Figura 1** – Espectro de FTIR da pectina da abóbora.

O mais interessante é a região que caracteriza o estado dos grupos carboxílicos (aprox. 1750-1350  $\text{cm}^{-1}$ )<sup>7</sup>. A banda em aproximadamente 1743  $\text{cm}^{-1}$  é indicativa do estiramento do grupo C=O de grupo carboxílico não-ionizado (metilado ou protonado). Sua ionização (formação de sal) leva ao seu desaparecimento, e ao aparecimento dos modos de estiramento de  $\text{COO}^-$  em aproximadamente 1600-1650 e 1400-1450  $\text{cm}^{-1}$ , respectivamente<sup>7</sup>. Observa-se que a alta intensidade da banda em 1743  $\text{cm}^{-1}$  evidencia que a pectina obtida é de alto grau de metilação.

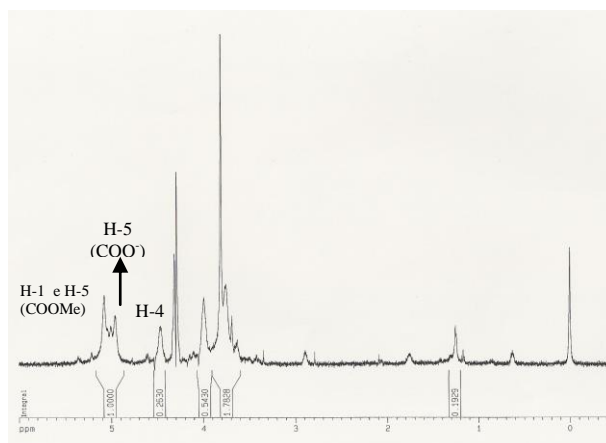
### *Análise de RMN: Determinação do GM*

Para determinação do GM, as integrais de H-5 (Figura 2) adjacentes a éster ( $\text{I}_{\text{COOMe}}$ ) são comparadas a soma das integrais de H-5 adjacente a éster ( $\text{I}_{\text{COOMe}}$ ) e H-5 adjacente a carboxilato ( $\text{I}_{\text{COO}}$ ).



**Figura 2** – Estrutura de um fragmento de pectina.

Devido a grande proximidade (ou sobreposição) dos sinais para H-1 e H-5<sub>COOMe</sub>, somente é possível determinar as integrais combinadas para H-1 e H-5<sub>COOMe</sub> ( $I_{H1}+I_{COOMe}$ ). O valor de GM determinado foi de 58% (Figura 3).

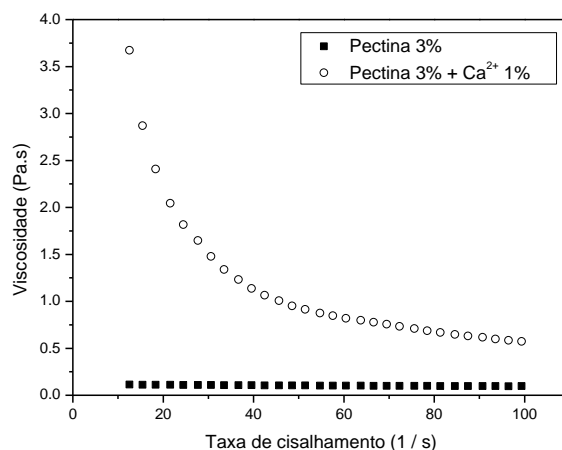


**Figura 3** – Espectro de <sup>1</sup>H NMR da pectina.

Grasdalen<sup>8</sup> foi o pioneiro na determinação do GM por <sup>1</sup>H RMN. Ele realizou análise detalhada da seqüência de ácido galacturônico livre e fragmentos pécticos de grupos tri- e tetraméricos. Pelo uso deste método simples, é possível caracterizar pectinas tendo um GM específico, e, portanto, com propriedades geleificantes específicas que são dependentes do GM<sup>8,9</sup>.

#### *Propriedades reológicas – comportamento de fluxo*

As curvas de fluxo das soluções de pectina na presença e ausência de íons cálcio são mostradas na Figura 4. Observa-se que a solução de pectina em presença de íons cálcio exibiu comportamento de fluxo pseudoplástico, sendo mais pronunciado na região de baixa taxa de cisalhamento. Para a curva de fluxo da solução de pectina na ausência de íons cálcio, valores significativamente mais baixos foram observados em um comportamento de fluxo newtoniano.

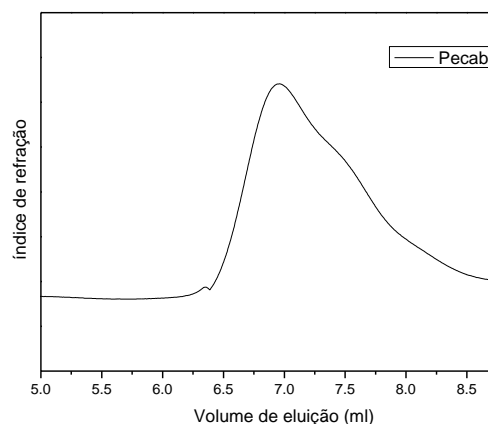


**Figura 4** - Curvas de fluxo em cisalhamento contínuo a 25 °C.

Este aumento nos valores de viscosidade deve-se à geleificação da solução. Ligações cruzadas são formadas entre os íons  $\text{Ca}^{2+}$  e os grupos carboxílicos negativamente carregados das moléculas de pectina, levando à formação de estruturas conhecidas como caixas de ovos (“egg-box”).

#### *Cromatografia de permeação em gel (GPC)*

Sete amostras padrões (pululana) foram injetadas em duplicata para determinar a massa molar média de pico (Mpk) da pectina. O volume de eluição foi usado para construir uma curva de calibração padrão de regressão linear de  $\log \text{Mpk}$  versus volume de eluição. O cromatograma da solução de pectina pode ser visto na Figura 5. Como os padrões são de polissacarídeo neutro, a Mpk obtida para a pectina é menor do que  $9.5 \times 10^5$  g/mol.



**Figura 5** – GPC da amostra de pectina.

## Conclusões

As espectroscopias no IV e de  $^1\text{H}$  NMR foram eficientes para determinar o grau de metilação (GM) da amostra de pectina, que foi de 58%. A pectina da *Cucurbita moschata* foi caracterizada como sendo de alto grau de metoxilação. O estudo reológico de cisalhamento contínuo da solução de pectina revelou um comportamento Newtoniano. Quando em presença de íons cálcio, o comportamento apresentado foi pseudoplástico, evidenciando a formação de interações eletrostáticas entre as cadeias pécnicas e o cation metálico. A massa molar de pico foi determinada por GPC e o valor obtido foi de  $9,5 \times 10^5$  g/mol.

## Agradecimentos

A Capes pela bolsa de doutorado e ao CENAUREMN (Centro Nordestino de Aplicação e Uso da Ressonância Magnética Nuclear) da Universidade Federal do Ceará pela realização das análises de RMN. Os autores agradecem, também, à Rede Nanoglicobiotec (MCT/CNPq) e ao INCT - Materiais Complexos Funcionais pelo apoio financeiro.

## Referências Bibliográficas

1. H. K. Arima; D. B. Rodriguez-Amaya *Arch. Latinoam. Nutric.* 1990, 40, 284.
2. M. Murkovic; U. Mülleder; H. Neunteu *J. Food Comp. Anal.* 2002, 15, 633.
3. W. G. T. Willats; J. P. Knox; D. Mikkelsen *Trends Food Sci. Technol.* 2006, 17, 97.
4. J. P. Vincken; H. A. Schols; R. J. F. J. Oomen; G. Beldman; R. G. F. Visser; A. G. J. Voragen  
In *Pectin – the hairy thing*, A. G. J. Voragen; H. Schols, R. Visser, Eds.; Kluwer Academic Publishers, Boston, 2003; 47–59.
5. K. W. Waldron; M. L. Parker; A. C. Smith *Crit. Rev. Food Sci. Food Saf.* 2003, 2, 101.
6. F. Guillon; M. Champ *Food Res. Int.* 2000, 33, 233.
7. M. P. Filipov *Food Hydrocoll* 1992, 115.
8. D. G. Oakenfull In *The Chemistry and Technology of Pectin*, R. H. Walter, Ed.; Academic Press, San Diego, 1991; 87.
9. M. A. V. Axelos; J. F. Thibault In *The Chemistry and Technology of Pectin*, R. H. Walter, Ed.; Academic Press, San Diego, 1991; 109.