



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO TECNOLÓGICO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA  
QUÍMICA**

**CARACTERIZAÇÃO E USO DA MUCILAGEM DO  
JARACATIÁ [*Carica quercifolia* (A. St.-Hil.) Hieron] NA  
ADSORÇÃO DE PAPAÍNA**

**CARINA FACCIO**

**FLORIANÓPOLIS - SC  
2015**



Carina Faccio

**CARACTERIZAÇÃO E USO DA MUCILAGEM DO  
JARACATIÁ [*Carica quercifolia* (A. St.-Hil.) Hieron] NA  
ADSORÇÃO DE PAPAÍNA**

Tese submetida ao Programa de Pós-  
Graduação em Engenharia Química da  
Universidade Federal de Santa  
Catarina para obtenção do grau de  
Doutor em Engenharia Química

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Mara Gabriela  
Novy Quadri

Florianópolis  
2015

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Faccio, Carina

Caracterização e Uso da Mucilagem do Jaracatiá [*carica quercifolia* (a. st.-hil.) Hieron] na Adsorção de Papaína / Carina Faccio ; orientadora, Mara Gabriela Noy Quadri ; – Florianópolis, SC, 2015.

132 p.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química.

Inclui referências

Engenharia Química. 2. Mucilagem. 3. Jaracatiá. 4. Adsorção  
5. Papaína. I. Quadri, Mara Gabriela Novy. II. Universidade Federal de Santa Catarina, Programa e Pós-Graduação em Engenharia Química. III. Título.

Carina Faccio

**CARACTERIZAÇÃO E USO DA MUCILAGEM DO  
JARACATIÁ [*Carica quercifolia* (A. St.-Hil.) Hieron] NA  
ADSORÇÃO DE PAPAÍNA**

Esta Tese foi julgada adequada para obtenção do Título de  
“**Doutor em Engenharia Química**” aprovada em sua forma final pelo  
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química.

Florianópolis, 27 de fevereiro de 2015.

---

Prof. Dr. Ricardo Antônio Francisco Machado  
Coordenador do POSENQ

**Banca Examinadora:**

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Mara Gabriela Novy Quadri  
Orientadora

---

Prof. Dr. Marco Di Luccio  
UFSC

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Cíntia Soares  
UFSC

---

Dr. Lauro Mera de Souza  
UFPR

---

Prof. Dr. José Ricardo da Silva Rodrigues  
IFC- Campus Brusque

---

Prof. Dr. Toni Jefferson Lopes  
FURG - Campus Santo Antônio da Patrulha



Este trabalho é dedicado a minha família, em especial ao meu marido Alexandre, pelo apoio e incentivo.



## AGRADECIMENTOS

A Deus, por conduzir a minha caminhada.

A minha orientadora, Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Mara Gabriela Novy Quadri, por todos os seus ensinamentos, orientação, paciência, disponibilidade e por todo o apoio.

Aos colegas do LASIPO: Addressa Gilioli, Vivian C. Colonetti, Mayra Stéphanie Pascoal Damas, Fernanda D. Pascoaletti, Helena M. Heidemann, Maria Júlia das Chagas, Débora R. Simioni, Camila Gonçalves, Taysnara Simioni, Deise P. Tramontin, Eduardo Niehues, Vanderlei C. de Souza, Rômulo C. Alves, Estácio Odisi, Jônata Biehl, Diego M. Ferro, Rafael K. Nishihora, Rodrigo Battisti, Fábio Mioto e Valdir A. Pereira Jr., pelo apoio, pelas inúmeras ajudas, pela convivência agradável e momentos de descontração.

Aos colegas do IFC – Campus Concórdia: Fabiana Bortolini, Nelsi Sabedot, Sheila M. da Silveira, Neiva L. Klein, Giniani Dors, Vanessa Biasi, Nei Fronza, Álvaro Vargas Jr. e Eduardo Huber.

A aluna de iniciação científica Uiná Simão pelas inúmeras ajudas nos experimentos.

A minha mãe Véra e a toda a minha família, pelo apoio e compreensão.

Ao meu marido Alexandre, pelo amor, incentivo, companheirismo e paciência.

A todos os professores do Departamento, pelas disciplinas ministradas e contribuição para a minha formação.

A todos os colegas que conheci no Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos e a todos aqueles que direta ou indiretamente foram importantes para a realização deste trabalho.

À Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Engenharia Química.

Ao IFC, em nome do reitor prof. Dr. Francisco Sobral e ao IFC – Campus Concórdia, em nome do Diretor Prof. Me. Jolcemar Ferro, pela liberação do afastamento e parceria no desenvolvimento da pesquisa, em especial ao Laboratório de Biotecnologia.

À Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina – EPAGRI, Estação Experimental de Campos Novos/SC, em nome de Sérgio Roberto Zoldan.

Ao Centro de Ressonância Magnética Nuclear do Centro Politécnico da Universidade Federal do Paraná.

À Central de Análises do Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina.

Ao Laboratório de Propriedades Físicas de Alimentos (PROFI) do Departamento de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina.

Ao Laboratório de Controle de Processos (LCP) do Departamento de Engenharia Química da Universidade Federal de Santa Catarina.

Ao Laboratório Central de Microscopia Eletrônica (LCME) da Universidade Federal de Santa Catarina.

Ao Laboratório de Química de Carboidratos do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Setor de Ciências Biológicas, Centro Politécnico da Universidade Federal do Paraná, em especial ao Dr. Lauro Mera de Souza pela colaboração nos experimentos relacionados à composição mono e polissacarídica.

Ao Prof. Dr. Marcelo Maraschin do Departamento de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina, pela disponibilidade em ajudar na realização deste trabalho.

## RESUMO

Os polissacarídeos provenientes das plantas são uma fonte interessante de aditivos para diversas indústrias, principalmente para a indústria alimentícia, farmacêutica e química. A mucilagem é composta quimicamente por água, pectinas, açúcares e ácidos orgânicos. O jaracatiá [*Carica quercifolia* (A. St.-Hil) Hieron] pertence à família *Caricaceae* e ao gênero *Vasconcellea*, sua caracterização é importante, visto que os dados referentes à espécie são escassos na literatura. A partir deste estudo foi possível propor aplicações, contribuindo, assim, com a preservação da espécie e o aproveitamento de novas fontes vegetais (biodiversidade brasileira). Foi determinada sua composição proximal, bem como análise dos grupos funcionais, composição mono e polissacarídica, comportamento reológico e térmico. Após a caracterização, a reticulação da mucilagem foi proposta com o intuito de obter um adsorvente para proteínas. As características da mucilagem antes e após a reticulação foram determinadas, sendo identificados os grupos funcionais antes e após a reticulação, bem como a capacidade de adsorção das mucilagens reticuladas. A mucilagem liofilizada do jaracatiá apresentou em torno de 10,14 % de cinzas, 5,51 % de fibra alimentar, 37,52 % de carboidratos totais, 16,49 % de açúcares redutores, 3,66 % de lipídeos e a 16,04 % de proteína total; a atividade antioxidante foi de 27,46 % DPPH sequestrado e o teor de fenólicos de 173,19 mg·L<sup>-1</sup> EAG. Com a pré-purificação a maior mudança foi em relação aos carboidratos totais, que diminuíram para 15,23 %, devido a eliminação dos açúcares redutores. O efeito antimicrobiano foi mais acentuado frente a *Staphylococcus aureus* do que para *Escherichia coli*. Os monossacarídeos identificados foram Rha, Ara, Xyl, Gal, Glc, GalA. A análise para RMN indicou que os polissacarídeos principais são compostos por uma porção de arabinogalactanas do tipo I. Os espectros FTIR mostraram que houve mudança química com a reticulação e, devido à multiplicidade de grupos funcionais o material apresenta superfície reativa. A mucilagem reticulada pode ser utilizada em processos de separação de proteínas. O mecanismo cinético que controla o processo de adsorção foi melhor representado pelo modelo de pseudo-segunda ordem e em relação a isoterma de adsorção o modelo que melhor se ajustou foi o de Freundlich. Na análise termogravimétrica, observou-se que acima de 523 K (250 °C) o uso do material se torna inviável.

**Palavra-chave:** Jaracatiá. Mucilagem. Reticulação. Adsorção. Papaína.



## ABSTRACT

Polysaccharides from plants are an interesting source of additives for various industries, mainly for the food, pharmaceutical and chemical industries. Mucilage is chemically composed of water, pectins, sugars and organic acids. The jaracatiá [*Carica quercifolia* (A. St.-Hil) Hieron] belongs to the *Caricaceae* family and *Vasconcellea* genus. Its characterization is important since data on the species is scarce. With this study, it was possible to propose applications, contributing to the preservation of the species and the use of new plant sources (Brazilian biodiversity). Its proximate composition as well as the analysis of functional groups, mono and polysaccharide composition, rheological and thermal behavior were determined. After the characterization, the mucilage crosslinking was proposed in order to obtain a protein adsorbents. The characteristics of mucilage before and after crosslinking were measured, identifying functional groups before and after crosslinking, as well as the adsorption capacity of the crosslinked mucilage. The freeze-dried mucilage of the jaracatiá presented around 10.14% ash, 5.51% dietary fiber, 37.52% of total carbohydrates, 16.49% of reducing sugars, 3.66% lipids and 16.04% total protein. The antioxidant activity was 27.46% sequestered DPPH and the phenolic content of 173.19 mg L<sup>-1</sup> GAE. With the pre-purification, the biggest change was observed for total carbohydrates, which decreased to 15.23% due to elimination of reducing sugars. The antimicrobial effect was more pronounced against *Staphylococcus aureus* than *Escherichia coli*. The monosaccharides identified were Rha, Ara, Xyl, Gal, Glc and GalA. The NMR spectra indicated that the major polysaccharides are composed of a portion of type I arabinogalactans. The FTIR spectra showed that there was a chemical change with the crosslinking and because of the multiplicity of functional groups the material has a reactive surface. The crosslinked mucilage may be used in protein separation processes. The kinetic mechanism that controls the adsorption process was best represented by the pseudo-second-order model. The model that best fit the sorption isotherm was the Freundlich. The thermogravimetric analysis showed that it is unfeasible the processing of this material above 523 K (250 °C).

**Keywords:** Jaracatiá. Mucilage. Crosslinking. Adsorption. Papain.



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Classificação das isotermas de adsorção. ....	29
Figura 2- Frutos do Carica quercifolia (A. St.-Hil.) Hieron. ....	35
Figura 3 - Modelo da estrutura da parede celular primária de dicotiledôneas.....	37
Figura 4 - Estrutura química da epicloridrina.....	45
Figura 5 - Estrutura química do ácido cítrico.....	45
Figura 6 - Fluxograma do processo de obtenção da mucilagem de jaracatiá. ....	50
Figura 7 - Reação de hidrólise.....	59
Figura 8 - Reação de redução.....	60
Figura 9 - Reação de acetilação.....	60
Figura 10 - Esquema que representa a reação de metilação. ....	61
Figura 11 - Espectros de FTIR da mucilagem liofilizada (ML) e da mucilagem precipitada (MP).....	72
Figura 12 - Espectros de FTIR da mucilagem precipitada (MP), da mucilagem reticulada com ácido cítrico (MP-AC) e da mucilagem reticulada com epicloridrina (MP-ECH). ....	74
Figura 13 - Cromatografia em camada delgada (TLC) da mucilagem precipitada.....	76
Figura 14 - Espectro RMN- <sup>13</sup> C <sup>1</sup> H (HSQC-ED) da mucilagem precipitada.....	79
Figura 15 - Espectro RMN- <sup>13</sup> C <sup>1</sup> H (HSQC-ED) da mucilagem precipitada na região característica de carboidratos.....	81
Figura 16 - Curvas da TG/DTG para a mucilagem liofilizada [ML (a)] e a mucilagem precipitada [MP (b)].....	82
Figura 17 - Micrografias da mucilagem precipitada. ....	84
Figura 18 - Micrografias da mucilagem reticulada com ácido cítrico... 85	
Figura 19 - Micrografias da mucilagem reticulada com epicloridrina. . 85	
Figura 20 - Resultados experimentais obtidos na determinação do ponto isoelétrico da mucilagem liofilizada (a) e da papaína (b).....	86
Figura 21 - Resultados experimentais obtidos na determinação do ponto isoelétrico (pI) da mucilagem reticulada com epicloridrina (a) e da mucilagem reticulada com ácido cítrico (b). ....	87
Figura 22 - Curva com os dados da análise de tensão superficial da água com o uso da mucilagem liofilizada na temperatura de 293 K (20 °C). 88	
Figura 23 - Dados da avaliação do comportamento do fluido.....	90
Figura 24 - Antibiograma da mucilagem liofilizada pura e em solução a 5 %. ....	91

Figura 25 - Aparência da amostra durante as fases da reticulação: (a) mucilagem precipitada e seca; (b) mucilagem após a reticulação com ácido cítrico; (c) durante a lavagem e (d) após seca e desintegrada.....	92
Figura 26 - Cinética de adsorção da papaína. ....	93
Figura 27 - Isotermas experimentais de adsorção da papaína. ....	96
Figura 28 - Diagrama de Pareto considerando a curvatura. ....	100
Figura 29 - Superfície de resposta do modelo considerando a curvatura. ....	100
Figura 30 - Valores preditos versus observados. ....	101

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Estudos de extração e caracterização de mucilagens de diferentes espécies.....	39
Tabela 2 - Principais aplicações de mucilagens. ....	40
Tabela 3 - Estudos da adsorção de proteínas.....	47
Tabela 4 - Valores utilizados dos reagentes do kit.....	53
Tabela 5 - Planejamento fatorial completo $2^3$ com triplicata no ponto central.....	66
Tabela 6 - Níveis dos fatores utilizados para os testes de adsorção da papaína. ....	66
Tabela 7 - Avaliação do rendimento em cada etapa do processo. ....	69
Tabela 8 - Composição proximal, atividade antioxidante e compostos fenólicos da mucilagem liofilizada (ML) e da mucilagem precipitada (MP) em base seca.....	70
Tabela 9 - Grupos funcionais da mucilagem reticulada com ácido cítrico.....	74
Tabela 10 - Composição monossacarídica da mucilagem precipitada. .	77
Tabela 11 - Acetatos de alditóis parcialmente metilados presentes na mucilagem precipitada (MP).....	78
Tabela 12 - Perda de massa em função da temperatura para a mucilagem liofilizada (ML) e para a mucilagem precipitada (MP).....	83
Tabela 13 - Dados preliminares obtidos na adsorção de papaína utilizando as mucilagens reticuladas com ácido cítrico (MP-AC) e com epicloridrina (MP-ECH) como adsorventes. ....	94
Tabela 14 - Parâmetros cinéticos para a adsorção de papaína.....	94
Tabela 15 - Teste de recuperação da papaína.....	95
Tabela 16 - Parâmetros de ajuste do modelo de Freundlich.....	97
Tabela 17 - Concentração de papaína adsorvida pela mucilagem reticulada com ácido cítrico nas diferentes condições de operação. ....	97
Tabela 18 - Análise de variância (ANOVA).....	98
Tabela 19 - Análise de variância (ANOVA) considerando a curvatura.	99
Tabela 20 - Dados experimentais e preditos pelo modelo considerando ou não a curvatura. ....	101



## LISTA DE SIGLAS E SÍMBOLOS

ATP	Trifosfato de adenosina
BSA	Albumina de soro bovino
CMC	Carboximetilcelulose
DNS	Ácido 3,5 - dinitrosalicílico
DMSO	Dimetilsulfóxido
DPPH	2,2-difenil-1-picril-hidrazil
EAG	Equivalente em ácido gálico
MES	Ácido 2-(N-morfolino)etanolamina
PIPES	Piperazina N,N'-bis-(ácido 2-etano sulfônico)
TFA	Ácido trifluoracético
TMSP-d4	Ácido 2,2,3,3-tetradeutério-3-trimetilsililpropiónico
TRIS	(hidroximetil)aminometano
UFC	Unidade formadora de colônia
$\delta$	Deslocamento químico



## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>23</b>
1.1 OBJETIVOS.....	24
1.2 ESTRUTURA DO TRABALHO.....	25
<b>2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....</b>	<b>27</b>
2.1 ADSORÇÃO.....	27
<b>2.1.1 Isotermas.....</b>	<b>28</b>
<b>2.1.2 Cinética de adsorção.....</b>	<b>32</b>
2.2 ESPECTROMETRIA DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (RMN) EM DUAS DIMENSÕES (2D) HETERONUCLEAR COM GRADIENTE DE CAMPO.....	33
<b>3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>35</b>
3.1 JARACATIÁ.....	35
3.2 MUCILAGEM.....	37
3.3 FRACIONAMENTO DA MUCILAGEM.....	41
3.4 RETICULAÇÃO DE BIOPOLÍMEROS.....	42
<b>3.4.1 Epiclorigdrina.....</b>	<b>44</b>
<b>3.4.2 Ácido cítrico.....</b>	<b>45</b>
3.5 ADSORÇÃO.....	46
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>49</b>
4.1 MATERIAL.....	49
4.2 MÉTODOS.....	49
<b>4.2.1 Processo de obtenção dos adsorventes.....</b>	<b>49</b>
<b>4.2.2 Rendimento.....</b>	<b>52</b>
<b>4.2.3 Análises químicas.....</b>	<b>52</b>
<b>4.2.4 Análises físicas.....</b>	<b>63</b>
<b>4.2.5 Atividade antimicrobiana.....</b>	<b>64</b>
<b>4.2.6 Avaliação dos processos de adsorção/dessorção.....</b>	<b>65</b>
<b>5. RESULTADOS.....</b>	<b>E</b>
<b>DISCUSSÃO.....</b>	<b>6869</b>
5.1 RENDIMENTO.....	69
5.2 ANÁLISES QUÍMICAS.....	70
5.3 ANÁLISES FÍSICAS.....	82
5.4 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA.....	90
5.5 AVALIAÇÃO DO PROCESSO DE ADSORÇÃO.....	92
<b>6. CONCLUSÃO.....</b>	<b>103</b>
<b>7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....</b>	<b>105</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>107</b>



## 1. INTRODUÇÃO

A mucilagem ocorre naturalmente em algumas plantas, nas quais parece ter a função de reter água. É uma fração da composição polissacarídica das plantas, capaz de se tornar viscosa na presença de água. É um hidrocoloide vegetal, substância amorfa e translúcida, resultado da polimerização de um monossacarídeo ou mistura de diversos monossacarídeos neutros, muitos deles combinados com monossacarídeos ácidos (ácidos urônicos).

Algumas das mucilagens mais estudadas são a da babosa (*Aloe vera*) (BARI, LETCHMANAN e YUNUS, 2011; GUPTA *et al.*, 2013), de nopal (*Opuntia ficus indica* (L.) Mill) (GALATI *et al.*, 2001; DEL-VALLE *et al.*, 2005; ESPINO-DÍAZ *et al.*, 2010; FOX *et al.*, 2012), de figo (*Ficus carica*) (RANGARI *et al.*, 2012), de linhaça (*Linum usitatissimum* L.) e do inhame (*Dioscorea pseudojaponica Yamamoto*) (CONTADO *et al.*, 2009). As principais aplicações da mucilagem são na área médica, farmacêutica, química e de alimentos por ser biocompatível, atóxica e por suas propriedades, podendo ser utilizada como estabilizante, espessante, agente ligante e em revestimentos comestíveis.

Na área química, uma das formas de melhor aproveitamento da mucilagem seria a associação a componentes químicos para obtenção de novos materiais. Os polissacarídeos são compostos reativos devido à multiplicidade de grupos funcionais tais como: OH, NH, CH, C-OH, C-O e C=O que representam compostos como água, álcool, proteína, fenol, ésteres e ácidos carboxílicos. Alguns estudos apontam para a utilização dos mesmos como adsorventes, podendo ser utilizados para purificação de proteínas. Mas para tal aplicação ser bem sucedida, estes devem ser fracionados e reticulados para evitar a dissolução.

Uma das formas de fracionar a mucilagem é através do processo que utiliza a precipitação com solventes, que é um dos modos mais simples e que leva a bons resultados. O etanol é uma boa alternativa para uso como agente precipitante, pois é atóxico, renovável, fácil de ser encontrado no mercado, além de ter baixo custo. Sendo capaz de separar macromoléculas, como polissacarídeos e proteínas, é usado, por exemplo, para purificar componentes provenientes de matérias-primas como a mucilagem do fruto e do cladódio de *Cereus hildmaniannus* K. Schum (BRANCO, 2011; PILETTI, 2011; COLONETTI, 2012), a mucilagem do *Aloe vera* (GUPTA *et al.*, 2013), da linhaça (CUI e MAZZA, 1996), de gomas extraídas das sementes de *Caesalpinia*

*pulcherrima*, de *Adenanthera pavonina*, da *Delonix regia*, do *Tamarindus indica*, da *Mucuna sloanei* e da *Hymenaea courbari* (ALVES, 2013), da galactoxiloglucana extraída da semente de *Mucuna sloanei* (TEIXEIRA-SÁ *et al.*, 2009) e os polissacarídeos extraídos da semente da *Spondias purpurea* (TEIXEIRA *et al.*, 2007).

Os métodos comumente utilizados para reticular polímeros naturais empregam produtos tóxicos como agentes reticulantes, como epiclorigrina e glutaraldeído. O uso de reticulantes naturais, como o ácido cítrico, é uma das alternativas para minimizar este efeito, pois é atóxico e considerado um aditivo alimentar seguro; além disso, é de baixo custo.

Polímeros sintéticos utilizados na adsorção de proteínas têm algumas desvantagens, tais como: elevado custo, toxicidade, poluição ambiental durante a síntese e obtenção de fonte não renovável. Já os naturais são biodegradáveis, biocompatíveis, provenientes de fonte renovável, atóxicos e com boa relação custo-benefício.

Este trabalho se propõe a avaliar a viabilidade da aplicação da mucilagem de jaracatiá no processo de adsorção para purificação da papaína, uma enzima proteolítica muito utilizada na indústria. Até os dias de hoje é obtida exclusivamente do látex dos frutos verdes do mamão (*Carica papaya*). O jaracatiá é uma fonte de papaína, mas seu látex é difícil de ser coletado devido ao tamanho dos seus frutos. Uma das finalidades do desenvolvimento de um adsorvente de proteínas é que este facilita a extração e recuperação deste produto de alto valor agregado.

## 1.1 OBJETIVOS

### Objetivo geral

Caracterizar a mucilagem do jaracatiá [*Carica quercifolia* (A. St.-Hil.) Hieron)] visando a aplicação no processo de adsorção de papaína.

### Objetivos específicos:

- avaliar as características da mucilagem do jaracatiá liofilizada, precipitada e reticulada;
- avaliar a reticulação química da mucilagem do jaracatiá precipitada utilizando um reticulante tradicional (epiclorigrina) e outro atóxico (ácido cítrico);
- estudar a capacidade de adsorção frente à papaína.

## 1.2 ESTRUTURA DO TRABALHO

Para atender ao objetivo proposto, o trabalho está dividido em capítulos, sendo o primeiro constituído pela Introdução e Objetivos onde está exposta uma visão geral do trabalho bem como os objetivos a serem alcançados. O segundo capítulo a Fundamentação Teórica sobre isotermas e cinéticas de adsorção e RMN em duas dimensões. O terceiro capítulo compreende a Revisão Bibliográfica a qual apresenta informações sobre o jaracatiá, o que é a mucilagem, tipos de pré-purificação, a reticulação química para obtenção do adsorvente e a adsorção. No quarto capítulo temos Material e Métodos onde estão citados os materiais utilizados e detalhados os métodos de análise empregados no desenvolvimento do trabalho. O quinto capítulo compreende Resultados e Discussão em que são avaliados os resultados obtidos em cada análise e o sexto traz a Conclusão do trabalho. As Sugestões para Trabalhos Futuros estão no capítulo 7.



## 2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 2.1 ADSORÇÃO

A adsorção é o processo pelo qual uma molécula adere a superfície de um sólido ou a uma interface entre um sólido e um líquido, entre um sólido e um gás ou entre líquidos. É um fenômeno bidimensional, pois está limitado a superfície (DALVIN, 2011), podendo a superfície ser plana, sólida, porosa ou lisa. A quantidade adsorvida é diretamente proporcional à área superficial do sólido (SCHMAL, 2011).

É uma operação de transferência de massa, na qual moléculas de uma fase fluida (gás ou líquido) se concentram espontaneamente sobre uma superfície, geralmente sólida. Esta é uma propriedade fundamental da matéria, tendo sua origem nas forças atrativas entre as moléculas (RUTHVEN, 1984, 1997; GOMIDE, 1988; LATOURRETTE e POMBEIRO, 1991; CAVALCANTE JR., 1998).

O mecanismo de adsorção pode envolver quatro estágios: (1) difusão de moléculas da solução para a camada periférica do adsorvente; (2) difusão das moléculas na interface e adsorção pelos sítios da superfície externa; (3) difusão de moléculas para dentro dos poros do adsorvente (difusão intrapartícula); (4) interação das moléculas com os sítios disponíveis na superfície interna, ligando-se aos espaços porosos e capilares do adsorvente (HUNTER, 1993; SHAW, 1994; HUMERES, DEBACHER e GONZÁLEZ, 1998).

As forças de adsorção envolvidas dependem diretamente da natureza tanto do sólido como do adsorbato e podem ser classificadas em três tipos: forças van der Waals (dispersão e repulsão), forças eletrostáticas (polarização e as interações dipolo e quadrupolo) e forças de interação adsorbato-adsorbato (SCHWANKE, 2003).

Os processos de adsorção podem ser classificados de acordo com as fases que constituem a interface: líquido/gás, sólido/gás, sólido/líquido e líquido/líquido e de acordo com os tipos de interações que agem na superfície: processo físico (fisissorção) ou químico (quimissorção) (PONEC, KNOR e CERNY, 1974).

A adsorção física é não-específica, rápida e reversível. O adsorbato encontra-se ligado a superfície por forças de van der Waals (forças dipolo-dipolo e forças de polarização, envolvendo dipolos induzidos) além de outras forças, como forças eletrostáticas e ligações de hidrogênio. A adsorção física representa o fenômeno da maioria dos processos de separação (SCHWANKE, 2003). A adsorção física ocorre

pela atração dipolar e depende das estruturas internas da superfície e das partículas que aderem a ela (RANGEL, 2013).

A adsorção química é específica e envolve a formação de um composto bidimensional (NUNES, 2009), de acordo com a intensidade da ligação, a qual apresenta ordem de grandeza semelhante à da ligação química; no caso da física as energias medidas estão por volta daquelas necessárias para as mudanças de estado e o fenômeno físico movimenta energias da ordem de um décimo das energias acusadas pelo fenômeno químico (RANGEL, 2013).

Vários são os fatores que afetam a adsorção, dentre eles destacam-se a estrutura molecular ou natureza do adsorvente, a solubilidade do soluto, o pH do meio e a temperatura e diâmetro molecular do adsorbato (ZOGORSKY, FAUST e HASS, 1976; FOUST, WENZEL e CLUMP, 1982; RUTHVEN, 1984; ANIA, PARRA e PIS, 2002; SALAME e BAANDORZ, 2003). O processo de adsorção é, muitas vezes, reversível, de modo que a modificação da temperatura e/ou pressão pode provocar a fácil remoção do soluto adsorvido no sólido (FOUST, WENZEL e CLUMP, 1982).

### 2.1.1 Isotermas

As isotermas de adsorção são muito utilizadas para obter informações sobre o processo de adsorção em estado de equilíbrio do adsorbato e do adsorvente e em particular, para avaliar a capacidade de adsorção (CAMBUIM, 2009). Mostram a relação de equilíbrio do adsorbato no adsorvente e na solução, e indicam como o adsorvente efetivamente adsorverá, bem como apresenta uma estimativa máxima da capacidade de adsorção (FERNANDES, 2005).

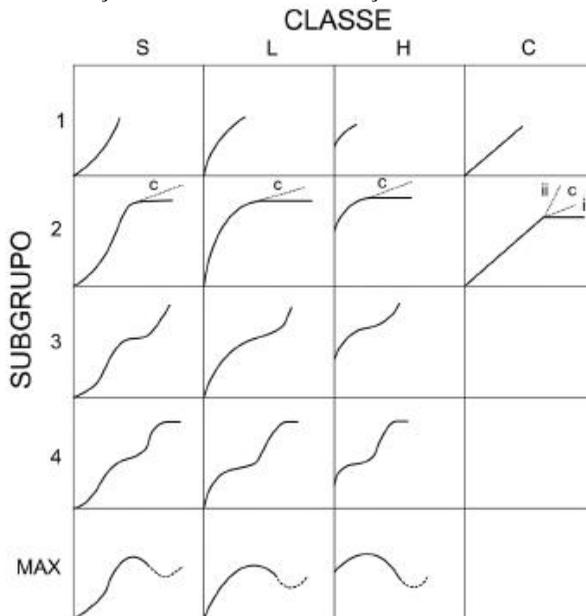
Em um processo de adsorção, o equilíbrio do sistema é alcançado quando não há mudanças líquidas nas concentrações do adsorbato na fase sólida e do soluto na solução. O equilíbrio reflete a capacidade e/ou a afinidade de um adsorvente por um soluto, sob um dado conjunto de condições em que o sistema é submetido (WEBER, 1972).

A representação gráfica da quantidade de soluto adsorvida na superfície da matriz sólida em função da concentração de soluto em solução no equilíbrio é denominada isoterma de adsorção (RUTHVEN, 1984).

A classificação mais detalhada das isotermas de adsorção que vem sendo utilizada é a de Giles *et al.* (1960). As isotermas são

divididas em quatro classes (S, L, H e C) e quatro subgrupos (1, 2, 3 e 4). As isotermas de Giles são mostradas na Figura 1.

Figura 1 - Classificação das isotermas de adsorção.



Fonte: Giles *et al.* (1960).

As isotermas do tipo S (sigmoideal) apresentam uma curvatura inicial voltada para cima, pois as interações adsorbente - adsorbato são mais fracas que as interações adsorbato-adsorbato e solvente-adsorbente. As isotermas do tipo L (de Langmuir) possuem curvatura inicial voltada para baixo devido à diminuição da disponibilidade dos sítios ativos. As isotermas do tipo H (“high affinity”) aparecem quando o adsorbato tem grande afinidade pelo adsorbente. A quantidade adsorvida inicial é alta e logo após o equilíbrio é alcançado. As isotermas do tipo C (“constant partition”) possuem um início linear indicando que o número de sítios ativos é constante. Subgrupo 2: indica a saturação da superfície em que o adsorbato tem mais afinidade pelo solvente do que pelas moléculas já adsorvidas. Subgrupo 3: caracterizada por uma subida após um ponto de inflexão. Subgrupo 4: indica a formação de camadas múltiplas de adsorbato adsorvido. Subgrupo MAX: a isoterma apresenta um máximo a altas concentrações. É um caso raro e indica que em altas

concentrações do adsorbato as interações adsorbato-adsorbato aumentam muito mais rapidamente do que as atrações adsorbato-adsorvente.

Diversos modelos teóricos são empregados no estudo da adsorção, sendo os mais importantes descritos pelas isotermas introduzidas por Langmuir, Freundlich e Temkin (SCHMAL, 2011).

- Modelo de Langmuir

O modelo de Langmuir (LANGMUIR, 1918) é adequado para representar a adsorção física e propõe que a adsorção do adsorbato ocorre sobre uma superfície homogênea do adsorvente como monocamada, na qual a energia de adsorção é distribuída homogeneamente e a distribuição de moléculas adsorvidas ocorre de maneira uniforme (CHAKRAVARTY *et al.*, 2008). As moléculas do adsorbato recobrem toda a superfície adsorvente, que contém um número finito de sítios e cada sítio mantém apenas uma molécula, não havendo, pois, interação entre moléculas vizinhas (RADHIKA e PALANIVELU, 2006).

O modelo de Langmuir pode ser escrito na forma não linearizada, Equação (1), e na forma linearizada, Equação (2):

$$q_e = \frac{q_m b_L C_e}{1 + b_L C_e}, \quad (1)$$

$$\frac{C_e}{q_e} = \frac{1}{q_m + b_L} + \frac{1}{q_m} C_e \quad (2)$$

onde  $q_e$  é massa do adsorbato adsorvida por unidade de massa do adsorvente ( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ),  $C_e$  é a concentração no equilíbrio do adsorbato em solução depois da adsorção ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ),  $q_m$  é a constante empírica que indica a capacidade de adsorção na monocamada ( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ) e  $b_L$  é a constante do modelo de Langmuir ( $\text{L}\cdot\text{mg}^{-1}$ ) ou constante de equilíbrio de adsorção relacionada à energia livre de adsorção.

- Modelo de Freundlich

A equação de Freundlich (FREUNDLICH, 1906) considera a adsorção em multicamadas e é útil para descrever a adsorção em superfícies altamente heterogêneas. Sugere que a energia de adsorção decresce logarithmicamente à medida que a superfície vai se tornando coberta pelo soluto, o que a diferencia da equação de Langmuir, como descreve a Equação (3).

$$q_e = K_F C_e^{n_F}, \quad (3)$$

onde  $K_F$  é a constante de Freudlich ( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ) e  $n_F$  é a constante da intensidade de adsorção.

Sua forma linearizada (Equação 4), reproduz bem a isoterma experimental e está mostrada a seguir (JUSOH *et al.*, 2005):

$$\log q_e = \log K_F + \frac{1}{n_F} \log C_e, \quad (4)$$

A constante  $K_F$  depende da temperatura e área superficial específica do adsorvente e seu valor relaciona a capacidade de adsorção. A constante  $n_F$  também depende da temperatura (AMUDA, GIWA e BELLO, 2007; GÖK *et al.*, 2008). O valor de  $n$  permite inferir sobre a forma da isoterma e o mecanismo de sorção. Se  $n=1$  representa uma isoterma C, se  $n<1$  uma isoterma L e se  $n>1$  uma isoterma S (HINZ, 2001). Quanto maior o valor de  $n$ , mais heterogêneo é o processo de adsorção (FERREIRA *et al.*, 2002).

- Modelo de Temkin

O modelo de Temkin é bastante simples e sem vantagens especiais (TEMKIN e PYZHEV, 1940), representado pelas Equações (5), (6) e (7):

$$q_e = \frac{RT}{b} \ln(A_T C_e) \dots \quad (5)$$

$$q_e = \frac{RT}{b_T} \ln A_T + \frac{RT}{b_T} \ln C_e \quad (6)$$

$$B = \frac{RT}{b_T} \quad (7)$$

$$q_e = B \ln A_T + B \ln C_e, \quad (8)$$

onde  $A_T$  é a constante de equilíbrio de Temkin ( $L \cdot g^{-1}$ );  $b_T$  é a constante de Temkin;  $R$  é a constante universal dos gases ( $8,314 J \cdot mol^{-1} K^{-1}$ );  $T$  é a temperatura (298 K) e  $B$  é a constante relacionada ao calor de adsorção ( $J \cdot mol^{-1}$ ).

Este modelo parte da isoterma de Langmuir e admite que a constante de adsorção-dessorção varia com a cobertura, assumindo, assim, um decréscimo linear do calor de adsorção com a cobertura dos sítios (SCHMAL, 2011).

### 2.1.2 Cinética de adsorção

Os modelos cinéticos descrevem os fenômenos ocorridos durante a adsorção ou dessorção. Esses normalmente começam considerando uma superfície intacta do material e seguem avaliando o grau de adsorção ao longo do tempo até que a superfície esteja saturada (FERNOGLIO *et al*, 2011).

Modelos simples que permitem analisar a cinética de adsorção são dados por equações empíricas de Lagergren (pseudo-primeira ordem e pseudo-segunda ordem) (RADHIKA e PALANIVELU, 2006).

O modelo de adsorção de Lagergren para a pseudo-primeira ordem assume que a taxa de variação do soluto adsorvido com o tempo é diretamente proporcional à diferença entre a quantidade de soluto adsorvida no equilíbrio,  $q_e$ , e a quantidade adsorvida num tempo  $t$  qualquer (Equação 9):

$$\frac{dq_t}{dt} = K_1 (q_e - q_t), \quad (9)$$

onde  $q_e$  é a quantidade adsorvida na partícula no equilíbrio ( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ),  $q_t$  ( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ) é a quantidade adsorvida pelo adsorvente no tempo  $t$  e  $k_1$  ( $\text{min}^{-1}$ ) é a constante de adsorção de pseudo-primeira ordem.

A forma linearizada é dada pela Equação (10) (KALAVATHY *et al.*, 2005; GÖK *et al.*, 2008):

$$\log(q_e - q_t) = \log q_e - \frac{K_1}{2,303} t. \quad (10)$$

Caso a cinética de adsorção de pseudo-primeira ordem não seja obedecida, propõe seguir o modelo cinético de Lagergren para pseudo-segunda ordem, que é baseado na capacidade de adsorção no equilíbrio por parte do adsorvente e é expresso pela Equação (11) (GÖK *et al.*, 2008; CHAKRAVARTY *et al.*, 2008):

$$\frac{dq_t}{dt} = K_2 (q_e - q_t)^2, \quad (11)$$

onde  $K_2$  é a constante de velocidade de adsorção de pseudo-segunda ordem ( $\text{g}\cdot\text{mg}^{-1} \text{ min}^{-1}$ ).

A forma linearizada é dada pela Equação (12):

$$\frac{q}{q_t} = \frac{1}{K_2 q_e^2} + \frac{1}{q_e} t. \quad (12)$$

Para que as cinéticas de pseudo-primeira ordem ou pseudo-segunda ordem sejam aplicáveis, é necessário que, além de elevado coeficiente de correlação (R), o valor de  $q_e$  calculado seja próximo ao  $q_e$  experimental (RADHIKA e PALANIVELU, 2006).

## 2.2 ESPECTROMETRIA DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (RMN) EM DUAS DIMENSÕES (2D) HETERONUCLEAR COM GRADIENTE DE CAMPO

As técnicas 2D permitem correlacionar o deslocamento químico de hidrogênios e/ou carbonos que possuam alguma relação escalar (BARFIELD e CHAKRABARTI, 1969; SILVERSTEIN, WEBSTER e

KIEMLE, 2006) ou espacial (SANDERS e MERSH, 1983) entre si. O gradiente de campo conduz a uma seleção quântica muito mais eficiente e em um tempo muito menor. O espectro *gradient selected-2D* quase não possui ruídos, que são causados justamente pelo cancelamento imperfeito das ordens quânticas não desejadas usando-se um ciclo de modulação de fase (OSCHKINAT *et al.*, 1994).

HSQC-ED (*Heteronuclear Single Quantum Coherence – Editing*) – envolve transições quânticas simples e é editado com os cruzamentos devidos a grupos  $\text{CH}_2$  em fase oposta a grupos CH e  $\text{CH}_3$ . O eixo horizontal corresponde aos deslocamentos químicos de hidrogênios ( $\delta_{\text{H}}$ ) e o eixo vertical corresponde aos deslocamentos químicos de carbonos ( $\delta_{\text{C}}$ ) (KAY e BAX, 1989; SCHMIDT e RÜTERJANS, 1990; KONTAXIS *et al.*, 1994; LEÓN *et al.*, 1998; KAISER, PITOMBO e PINTO, 1998).

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 JARACATIÁ

O jaracatiá, *Carica quercifolia* (A. St.-Hil) Hieron, pertence à família Caricaceae e ao gênero *Vasconcellea* (VAN DROOGENBROECK *et al.*, 2004). Caricaceae é um família de plantas com flores da ordem das Brassicales, nativa de regiões tropicais e subtropicais das Américas Central e do Sul bem como da África. A família compreende cinco gêneros (*Carica*, *Jacaratia*, *Jarilla*, *Vasconcellea* e *Cylicomorpha*) (TORRES *et al.*, 2010).

Os gêneros *Carica* (uma espécie), *Jacaratia* (sete espécies), *Jarilla* (três espécies) e *Vasconcellea* (vinte e uma espécies) são originários do continente americano, enquanto o gênero *Cylicomorpha* (duas espécies) pertence ao continente africano (VAN DROOGENBROECK *et al.*, 2004).

Outros nomes utilizados para identificar o *Carica quercifolia* (A. St.-Hil.) Hieron são *Vasconcellea quercifolia* A. St.-Hil. e *Carica quercifolia* Solms-Laub. (COLOMBO *et al.*, 1989) e os nomes populares pelos quais é conhecido são jaracatiá, jacaratiá, mamute, mamão-do-mato, mamoeiro-do-mato, mamãozinho-do-mato, mamãozinho, mamoeirinho e mamoeiro-bravo (KINUPP, 2007). Na Figura 2 são mostrados os frutos do jaracatiá [*Carica quercifolia* (A. St.-Hil.) Hieron], com tamanho médio de 5 cm.

Figura 2- Frutos do *Carica quercifolia* (A. St.-Hil.) Hieron.



Fonte: MOLZ, 2008.

A árvore do jaracatiá é caducifólia, dioica, lactescente, apresentando de 4 a 10 m de altura, com tronco mais engrossado na base, com marcantes cicatrizes da queda das folhas e lenticelas evidentes. Seus frutos são elipsoides ou piriformes, com cerca de 5 cm de comprimento e quando imaturos são verdes angulosos e quando maduros são alaranjados, glabros e com muitas sementes tuberculadas. As sementes possuem mesotesta verrugosa e coloração clara (KINUPP, 2007).

A principal forma de uso do jaracatiá é na indústria de doces caseiros, sendo que a parte utilizada para a fabricação dos doces é o caule. O fruto não é usado para nada, pois é pequeno, difícil de ser colhido e possui muita semente. Poucas pessoas o apreciam na forma "in natura".

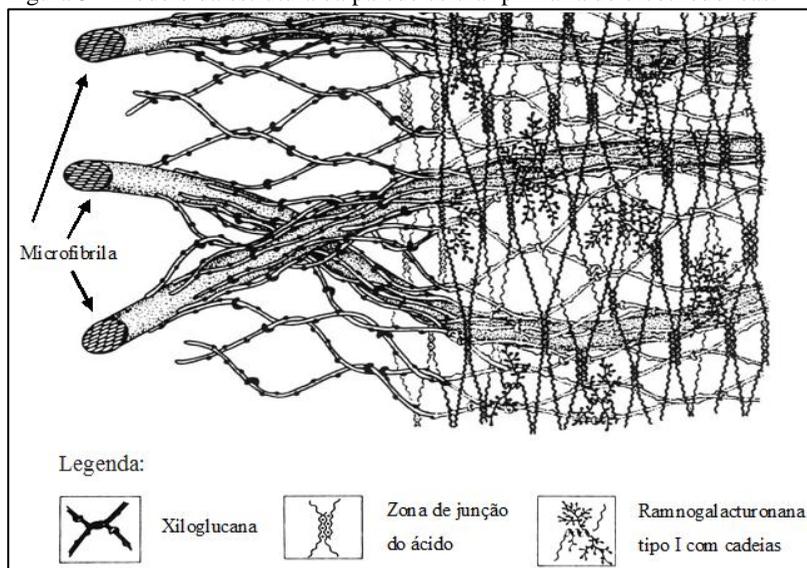
Hoje é encontrado apenas em fazendas tradicionais onde a vegetação nativa foi preservada ou em viveiros de alguns centros de pesquisa (FREITAS *et al.*, 2011). Ocorre no Brasil desde o sul da Bahia até o Rio Grande do Sul, passando por Minas Gerais, Goiás e Mato Grosso do Sul (LORENZI, 1998).

A parede celular de vegetais é composta majoritariamente de carboidratos que estão associados a proteínas (HELDT, 1997), podendo apresentar muitos polissacarídeos diferentes e, também, substâncias aromáticas. Este envoltório celular apresenta um complexo grau de estruturação, além de ser um compartimento dinâmico que passa por mudanças ao longo da vida da célula. A fração glicídica consiste em microfibrilas de celulose entrelaçadas em uma fase contínua de pectina e hemicelulose, além da lignina em paredes celulares secundárias (WHISTLER, 1970).

Um modelo estrutural para a parede celular primária de dicotiledôneas, denominadas paredes tipo I (Figura 3) foi proposto por Carpita e Gibeaut (1993). Neste tipo de parede as microfibrilas de celulose estão entrelaçadas por xiloglucanas e esta estrutura está embutida em uma matriz de polissacarídeos pécticos: ácido poligalacturônico e ramnoglacturonanas.

A composição química da parede celular primária de dicotiledôneas é de, aproximadamente, 25-40 % de celulose, 15-25 % de hemicelulose, 15-40 % de substâncias pécticas, 5-10 % de proteínas e traços de compostos fenólicos (AVIGAD e DEY, 1997).

Figura 3 - Modelo da estrutura da parede celular primária de dicotiledôneas.



Fonte: CARPITA e GIBEAUT, 1993.

### 3.2 MUCILAGEM

Nas plantas os carboidratos são constituintes essenciais, eles podem existir como monossacarídeos, oligossacarídeos, polissacarídeos e seus derivados, compondo um importante grupo de metabólitos, sendo, depois da água seus principais constituintes químicos (SIMÕES *et al.*, 2007). De acordo com a sua função, os carboidratos de plantas podem ser classificados em dois grandes grupos: estruturais e de reserva. Dentre os carboidratos de reserva observa-se a presença de monossacarídeos, dissacarídeos, oligossacarídeos e polissacarídeos e seus derivados, dentre os quais podem ser citados o amido, sacarose, frutanas, galactomananas e outros. Os carboidratos estruturais são responsáveis pela formação da parede celular e de outras estruturas na planta, sendo considerados os compostos mais abundantes da Terra (REID, 1997).

Geralmente, na mucilagem são encontradas proporções variáveis de arabinose, galactose, ramnose e xilose, bem como do ácido galacturônico (TRACHTENBERG e MAYER, 1981; NOBEL, CAVELIER e ANDRADE, 1992; CÁRDENAS, HIGUERA-CIAPARA e GOYCOOLEA, 1997).

Gomas e mucilagens têm algumas semelhanças; ambas são hidrocolóides vegetais, substâncias amorfas, translúcidas e polímeros de um monossacárideo neutro ou mistura de monossacarídeos e muitos deles são combinados monossacarídeos ácidos (ácidos urônicos). Na hidrólise produzem uma mistura de açúcares e ácidos urônicos (CÁRDENAS, ARGUELLES e GOYCOOLEA, 1998; JANI *et al.*, 2009; DEOGADE, DESHMUKH e SAKARKAR, 2012).

A mucilagem é um produto do metabolismo das plantas formado dentro das células (formação intracelular) e/ou produzida sem a necessidade de ferir a planta (QADRY, 2008). Ocorre geralmente nas sementes, nas quais parece ter a função de reter água para facilitar a germinação, mas pode ocorrer também em outras partes do vegetal (SIMÕES *et al.*, 2007).

A mucilagem é biodegradável, biocompatível, atóxica e apresenta boa relação custo-benefício (BHARDWAJ *et al.*, 2000; YEOLE *et al.*, 2006; DEOGADE, DESHMUKH e SAKARKAR, 2012), ao contrário da maioria dos polímeros sintéticos derivados de matérias-primas não renováveis que têm elevado custo, toxicidade e poluição ambiental durante a síntese (JANI *et al.*, 2009; DEOGADE, DESHMUKH e SAKARKAR, 2012). Uma das principais desvantagens da utilização de polímeros naturais é a possível variação entre cada safra, pois as características químicas dependem dos fatores ambientais e sazonais (KHULLER, KHAR e AGRAWAL, 1998).

Na Tabela 1 são mostrados alguns estudos de extração e caracterização de mucilagens extraídas de diferentes espécies e na Tabela 2 são mostradas as principais áreas onde a mucilagem tem aplicação.

Tabela 1 - Estudos de extração e caracterização de mucilagens de diferentes espécies.

<b>Autor</b>	<b>Espécie</b>
Misaki, Ito e Harada, 1972	Inhame chinês ( <i>Dioscorea batatas Decne</i> )
Barone <i>et al.</i> , 1994	<i>Ceratozamia spinosa</i>
Benhura e Marume, 1993; Benhura e Mavhudzi-Nyambayo, 1999	<i>Dicerocaryum zanguebarium</i>
Tomoda <i>et al.</i> , 1987	Hibisco ( <i>Hibiscus moscheutos</i> )
Osborn <i>et al.</i> , 1999	Milho ( <i>Zea mays</i> L.)
Cárdenas, Higuera-Ciapara e Goycoolea, 1997; Cárdenas, Arguelles e Goycoolea, 1998; Medina-Torres <i>et al.</i> , 2000; Matsuhira <i>et al.</i> , 2006; León-Martínez, Méndez-Lagunas e Rodríguez-Ramírez, 2010;	<i>Opuntia ficus indica</i>
Gebresamuel e Gebre-Mariam, 2012; Ramírez-Moreno <i>et al.</i> , 2013	
Cai, Gu e Tang, 2008	<i>Opuntia milpa alta</i> .
Charles, Huang e Chang, 2008	Cassava ( <i>Manihot esculenta Crantz</i> L.)
Branco, 2011; Piletti, 2011; Colonetti, 2012	Tuna ( <i>Cereus hildmaniannus</i> K. Schum)
Fu, Huang e Chu, 2005; Yeh, Chan e Chuang, 2009; Tavares <i>et al.</i> , 2011	Inhame ( <i>Dioscorea pseudojaponica</i> Yamamoto)
Ahad <i>et al.</i> , 2011	<i>Ficus reticulata</i> .
Rocha, Pimentel e Machado, 2011	Hibisco-do-mangue ( <i>Hibiscus pernambucensis</i> Arruda)
Kumar, Rajarajeshwari e Swamy, 2012	<i>Borassus flabellifer</i>
Gebresamuel e Gebre-Mariam, 2012	<i>Opuntia stricta</i>
Nguimbou <i>et al.</i> , 2012; Ziolkovska, 2012	<i>Cyrtosperma merkusii</i>
Ray <i>et al.</i> , 2013; Kaewmanee <i>et al.</i> , 2014	Linhaça ( <i>Linum usitatissimum</i> L.)
Kim <i>et al.</i> , 2013	<i>Opuntia humifusa</i> Raf
Capitani <i>et al.</i> , 2013	Chia ( <i>Salvia hispanica</i> L.)
Lima Jr. <i>et al.</i> , 2013	<i>Pereskia aculeata</i> Miller

Fonte: desenvolvida pela autora.

Tabela 2 - Principais aplicações de mucilagens.

(continua)

<b>Autor</b>	<b>Espécie</b>	<b>Área</b>	<b>Aplicação</b>
Mishra <i>et al.</i> , 2006	Feno-grego ( <i>Trigonella foenum-graecum</i> )	Farmacêutica e médica	Blendas com poliacrilamida para formação de géis.
Boban, Nambisan e Sudhakaran, 2006			Avaliação do efeito hipolipidêmico.
Baveja, Rao e Arora, 1988			Excipiente para dar forma aos comprimidos.
Gupta <i>et al.</i> , 2013	Babosa ( <i>Aloe vera</i> )		Imunoloestimulante.
Jani <i>et al.</i> , 2007			Excipiente em comprimidos com liberação prolongada.
Galati <i>et al.</i> , 2001	Nopal ( <i>Opuntia ficus indica</i> (L.) Mill)		Atividade anti-úlceras.
Edwin, Edwin e Dosi, 2007; Jani, e Shah, 2008	Hibisco ( <i>Hibiscus moscheutos</i> )		Excipiente em comprimidos com liberação prolongada.
Rangari <i>et al.</i> , 2012	Figo ( <i>Ficus carica</i> )		Adesivos transdérmicos.
Ahuja <i>et al.</i> , 2013	Dormideira ( <i>Mimosa pudica</i> )		Agente ligante em comprimidos.
Singh <i>et al.</i> , 2009			Excipiente em comprimidos de liberação prolongada.
Gaikar, Sandhya e Chaudhari, 2011	<i>Curculigo orchoides</i>		Coadjuvante farmacêutico, estabilizante.
Nerkar e Gattani, 2011, 2013	Linhaça ( <i>Linum usitatissimum</i> L.)		Mucoadesivo para medicação de uso bucal.
Basu e Bandyopadhyay, 2011			Mucoadesivo para medicação de uso nasal.
Gangurde e Boraste, 2012	<i>Bauhinia racemosa</i> Lam		Agente ligante em comprimidos.

Fonte: desenvolvida pela autora.

Tabela 2 - Principais aplicações de mucilagens.

(conclusão)			
<b>Autor</b>	<b>Espécie</b>	<b>Área</b>	<b>Aplicação</b>
Del-Valle <i>et al.</i> , 2005; Espino-Díaz <i>et al.</i> , 2010	Nopal ( <i>Opuntia ficus indica</i> (L.))	Alimentos	Revestimento comestível.
Khalifa <i>et al.</i> , 2011	<i>Psyllium ovata</i>		Estabilizante em iogurtes.
Bari, Letchmanan e Yunus, 2011	Babosa ( <i>Aloe vera</i> )		Agente redutor da perda por arraste em escoamento turbulento.
Contado <i>et al.</i> , 2009	Inhame ( <i>Dioscorea pseudojaponica</i> a Yamamoto)		Agente melhorador em panificação.
Fox <i>et al.</i> , 2012	<i>Opuntia ficus indica</i>	Química	Tratamento de efluentes na remoção de metais pesados.

Fonte: desenvolvida pela autora.

### 3.3 FRACIONAMENTO DA MUCILAGEM

Os polissacarídeos naturais frequentemente vêm misturados com sais inorgânicos e outros materiais de baixa massa molecular, que deles precisam ser separados (ASPINALL, 1982), visto que as propriedades são atribuídas somente aos polissacarídeos e sendo assim os outros compostos que estão misturados não são de interesse. O isolamento de uma substância qualquer visa obter uma substância quimicamente mais pura e homogênea e com máximo rendimento (RODRIGUES, PAULA e COSTA, 1993).

Uma das formas de pré-purificação é a precipitação, na qual tem-se a alteração da solubilidade de um ou mais componentes da solução, com o uso de solventes orgânicos ou de sais, alteração do pH e aumento ou diminuição da temperatura. A maioria dos precipitados formam um produto não cristalino, constituído de várias espécies de moléculas e que pode ser removido por filtração ou centrifugação (PACE, 1987; WARD, 1989; ASENJO e PATRICK, 1990; WARD, 1991; PRAZERES e FERREIRA, 2004).

O etanol é uma boa alternativa para uso como agente precipitante, pois é de uso comum e de baixo custo (MOERMAN, VAN LEEUWEN, DELCOUR, 2004). A precipitação com etanol é capaz de separar alta

massa molar de baixa, ou seja, separar macromoléculas como carboidratos e proteínas do restante dos componentes (SCHMOURLO *et al.*, 2005).

Muitos são os estudos que utilizam o etanol como agente precipitante. Cui e Mazza (1996) precipitaram a goma da linhaça. Teixeira *et al.* (2007) para isolar os polissacarídeos extraídos da semente da *Spondias purpurea*. Cai, Gu e Tang (2008) purificaram os polissacarídeos extraídos da *Opuntia milpa alta*. Teixeira-Sá *et al.* (2009) a galactoxiloglucana extraída da semente de *Mucuna sloanei*. Gan, Manaf e Latiff (2010) precipitaram os polissacarídeos extraídos da *Parkia speciosa*. Branco (2011), Piletti (2011) e Colonetti (2012) purificaram a mucilagem do fruto e do cladódio de *Cereus hildmaniannus* K. Schum. Alves (2013) purificou a goma extraída das sementes de *Caesalpinia pulcherrima*, *Adenanthera pavonina*, *Delonix regia*, *Tamarindus indica*, *Mucuna sloanei* e *Hymenaea courbaril*. Gupta *et al.* (2013) precipitaram a mucilagem de *Aloe vera*.

### 3.4 RETICULAÇÃO DE BIOPOLÍMEROS

Uma das maneiras de conferir aos biopolímeros propriedades funcionais adicionais ou simplesmente melhorar atributos, é através das modificação da estrutura química, o que é possível com a utilização de agentes reticulantes, os quais apresentam baixa massa molar e grupos funcionais reativos capazes de permitir a formação de ligações inter ou intracadeias poliméricas (GONSALVES e ARAÚJO, 2011).

A reticulação consiste na formação de uma rede, onde as várias cadeias do polissacarídeo estão interligadas por ligações covalentes, o que torna essas cadeias mais rígidas, dificultando, assim, a dissolução em água (GANJI e VASHEGHAMI-FARAHANI, 2009) e em meio ácido (YI, WANG e LIU, 2003), originando estruturas poliméricas densas ou porosas e reduz a reatividade química do material (TORRES *et al.*, 2005), ou seja, as reações de reticulação visam, principalmente, modificar determinadas propriedades do biopolímero, tais como, estabilidade química e térmica, rigidez estrutural, permeabilidade, cor, eficiência em quelação e capacidade de imobilização proteica e celular (NETO *et al.*, 2005).

A presença de grupos hidroxila e/ou carboxila na estrutura dos polissacarídeos permite uma reticulação química, na qual os agentes reticulantes reagem com esses mesmos grupos, dando origem a ligações cruzadas (FIGUEIREDO, 2011). Alguns dos reticulantes utilizados são

o glutaraldeído, a epícloridrina, o ácido bórico e o trimetafosfato de sódio (REDDY e YANG, 2010).

Benhura e Mavhudzi (1995) reticularam com epícloridrina a mucilagem de ruredzo (*Dicerocaryum zanguebarium*), a qual pode ser efetivamente utilizada para purificar a enzima poligalacturonase extraída de tomates. Teixeira *et al.* (2007) reticularam a goma exudada da seriguela (*Spondias pupurea*) com epícloridrina, a qual foi utilizada para isolar lectina das sementes de *Artocarpus incisa*, *Artocarpus integrifolia*, *Erythrina velutina*, *Ricinus communis*, *Canavalia maritima* e *Dioclea altissima*. Teixeira-Sá *et al.* (2009) reticularam com epícloridrina o polissacarídeo galactoxiloglucana, o qual serviu como adsorvente para isolar a lectina, ambos extraídos da semente de *Mucuna sloanei*.

Figueiró *et al.* (2006) reticularam com glutaraldeído o filme de colágeno/polissacarídeo de algas sulfatadas. Os resultados foram satisfatórios em relação a estabilidade térmica do colágeno.

Torres *et al.* (2005) reticularam microesferas de quitosana com glutaraldeído, epícloridrina ou por acetilação. As microesferas apresentaram, após as modificações químicas, temperatura de degradação térmica em torno de 573 K (300 °C), aumento da estabilidade química à solução de ácido clorídrico e diminuição da resistência mecânica.

Santoni *et al.* (2008) reticularam quitosana pura e quitosana/álcool polivinílico com genipina. Com isso foi possível observar a formação de redes mais sólidas e estáveis. A adição de álcool polivinílico não produziu nenhuma melhora nas propriedades mecânicas, visto que a quitosana é quem fornece a resistência mecânica. Pu, Wei e Zhang (2013) reticularam quitosana/hidroxiapatita com genipina para melhorar as propriedades mecânicas e diminuir a degradação, pois estes têm potencial de uso como suportes mecânicos temporários na regeneração óssea. Pujana *et al.* (2013) reticularam nanopartículas de quitosana com genipina e tiveram uma leve melhora na solubilidade em água, quando comparada a quitosana pura. Pujana *et al.* (2014) reticularam nanogel de quitosana/folato com genipina. Os resultados mostraram alta eficiência de encapsulação em solução aquosa e liberação controlada do princípio ativo em diferentes pHs, aumentando, assim, o potencial de uso.

No entanto, os produtos químicos utilizados para a reticulação são relativamente tóxicos, custo elevado ou não fornecem a melhoria desejada nas propriedades. O ácido cítrico foi avaliado como um potencial agente reticulante (REDDY e YANG, 2010), o qual é um

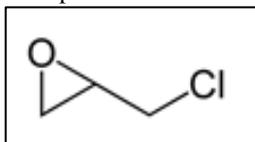
ácido orgânico com três grupos carboxílicos, que ocorre naturalmente e é classificado como um aditivo alimentar seguro (MENZEL *et al.*, 2013). Ácidos policarboxílicos, tais como o ácido cítrico, são de baixo custo, atóxicos e têm sido utilizados para melhorar o desempenho de propriedades da celulose e de proteínas em aplicações têxteis (YANG e ANDREWS, 1991; YANG, WANG e LI, 1996; YANG e WANG, 1996; YANG, WANG e KANG, 1997). Tecidos de algodão e seda reticulados com ácidos carboxílicos melhoram, principalmente, sua aparência e resistência ao enrugamento (YANG e WANG, 1996). Ácido tartárico e polietilenoglicol diácido foram utilizados para reticular nanopartículas de quitosana, diminuindo, assim, sua solubilidade em água e estabilidade em pH fisiológico ( $\pm 7,4$ ) (PUJANA *et al.*, 2012).

O ácido cítrico foi usado na esterificação do álcool polivinílico que, por ser um poliéster biocompatível e biodegradável, tem potencial de uso na medicina como matriz para tecido vascular (THOMAS *et al.*, 2009). Filmes de amido reticulados com ácido cítrico apresentaram uma melhora na resistência à tração, estabilidade térmica e diminuição da dissolução em água e ácido fórmico (REDDY e YANG, 2010) e aumento na barreira ao vapor d'água (OLSSON *et al.*, 2013). Outro uso do ácido cítrico é na reticulação de nanofibras de alginato/álcool polivinílico, as quais apresentaram resistência a água e ao fluido corporal simulado mostrando maior estabilidade térmica (STONE *et al.*, 2013). Filmes de álcool polivinílico/xilana reticulados com ácido cítrico mostraram uma melhora significativa nas propriedades mecânicas, como resistência à tração e alongamento, as quais foram alcançadas alterando a proporção mássica de álcool polivinílico/xilana e ácido cítrico (WANG *et al.*, 2014).

### 3.4.1 Epicloridrina

A epicloridrina ( $C_3H_5ClO$ ) (Figura 4) é um produto tóxico. Um exemplo de uso é como agente clarificante durante o processo de tratamento da água. No entanto, é possível que algumas moléculas de epicloridrina permaneçam na água como contaminante (GINANI *et al.*, 1999).

Figura 4 - Estrutura química da epicloRIDRINA.



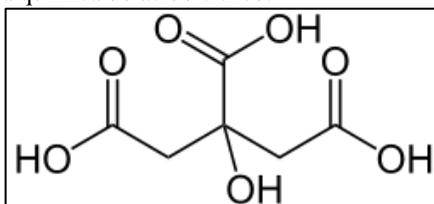
Fonte: PLONCOSKI, 2009; GONSALVES e ARAÚJO, 2011).

Como agente reticulante é tido como um ligante de grupos OH (GONSALVES e ARAÚJO, 2011). A reação de reticulação com epicloRIDRINA ocorre após o rompimento do anel epóxi da epicloRIDRINA seguido de uma substituição nucleofílica, sendo que a reação mostra apenas a substituição na hidroxila menos impedida estericamente (PLONCOSKI, 2009) com consequente formação do entrecruzamento (GONSALVES e ARAÚJO, 2011).

### 3.4.2 Ácido cítrico

O ácido cítrico (ácido 2-hidroxi-1,2,3-propanotricarboxílico) ( $C_6H_8O_7$ ) apresenta grupos carboxilas e hidroxilas (Figura 5). Está presente nas frutas cítricas e no abacaxi, onde é o principal ácido orgânico (MIKKONEN *et al.*, 2007) e também obtido a partir do microorganismo *Aspergillus niger*, que transforma diretamente a glicose em ácido cítrico (PALHA, 2005).

Figura 5 - Estrutura química do ácido cítrico.



Fonte: LIMA e AFONSO, 2009.

O ácido cítrico como reticulante, possibilita a ocorrência de esterificação entre o grupo carboxílico do ácido com a hidroxila do material a ser reticulado devido à presença de estrutura multicarboxílica. Pode servir como um agente de ligação cruzada, devido à sua estrutura, reforçando a ligação intermolecular através da introdução de ligações covalentes, de modo a melhorar as propriedades mecânicas e de resistência em água. Em segundo lugar, o ácido cítrico residual livre

pode atuar como um plastificante. Além disso, nutricionalmente não tem efeito prejudicial, uma vez que é um produto não tóxico. Esta propriedade de atoxicidade do ácido cítrico beneficia sua utilização (MIKKONEN *et al.*, 2007).

### 3.5 ADSORÇÃO

A adsorção de proteína é estudada há décadas devido a extensa gama de aplicações em diferentes áreas, como a biologia, a medicina e a biotecnologia (BOONSONGRIT *et al.*, 2008; LEI e JIANG, 2011; BOYER *et al.*, 2011; BRADLEY, 2012).

As proteínas são macromoléculas muito complexas com regiões polares, hidrofóbicas e carregadas (FUJIMOTO *et al.*, 2002). O que determina as características da proteína são as sequências de aminoácidos existentes na sua estrutura, uma vez que os grupos químicos ativos estarão distribuídos espacialmente de forma variada. Nem toda aproximação da proteína levará a uma efetiva adsorção, uma vez que as faces externas das proteínas são diferentes. De um modo geral, a proteína apresenta domínios espaciais com características químicas diferentes (ALBERTS *et al.*, 2006).

Assim, as interações entre proteínas e substratos sólidos podem ser de natureza eletrostática, hidrofóbica ou através de ligações de hidrogênio (FUJIMOTO *et al.*, 2002). Inúmeros são os estudos relacionados a adsorção de proteínas e alguns exemplos estão listados na Tabela 3.

Os polímeros sintéticos utilizados em adsorção têm algumas desvantagens, tais como: elevado custo, poluição ambiental durante a síntese e ser obtido de fonte não renovável (JANI *et al.*, 2009; DEOGADE, DESHMUKH e SAKARKAR, 2012). Já os naturais são biodegradáveis, biocompatíveis, atóxicos e com boa relação custo-benefício (BHARDWAJ *et al.*, 2000; YEOLE *et al.*, 2006; DEOGADE, DESHMUKH e SAKARKAR, 2012). Uma das principais desvantagens é a possível variação em cada safra, pois as características químicas dependem dos fatores ambientais e sazonais (KHULLER, KHAR e AGRAWAL, 1998).

Adsorventes naturais, como gomas e mucilagens, têm sido estudados. Alguns exemplos são a mucilagem de ruredzo (*Dicerocaryum zanguebarium*) reticulada com epiclorigrina, a qual pode ser efetivamente utilizada para purificar a enzima poligalacturonase extraída de tomates (BENHURA e MAVHUDZI, 1995); a goma exudada da seriguela (*Spondias pupurea*) reticulada com epiclorigrina, a

qual foi utilizada para isolar lectina das sementes de *Artocarpus incisa*, *Artocarpus integrifolia*, *Erythrina velutina*, *Ricinus communis*, *Canavalia maritima* e *Dioclea altissima*. (TEIXEIRA *et al.*, 2007); o polissacarídeo galactoxiloglucana reticulado com epícloridrina que foi utilizado para isolar a lectina, ambos extraídos da semente de *Mucuna sloanei* (TEIXEIRA-SÁ *et al.*, 2009).

Tabela 3 - Estudos da adsorção de proteínas.

<b>Autor</b>	<b>Proteína</b>	<b>Adsorvente</b>	<b>Conclusão</b>
Fujimoto <i>et al.</i> (2002)	Albumina de soro bovino (BSA)	Lâmina de silício com carboximetilcelulose (CMC) e quitosana	Quanto mais próximo o pH do ponto isoelétrico (pI) da proteína, melhor a adsorção, pois nesta situação o adsorvente estará com alta densidade de carga, enquanto que o adsorbato apresenta carga total zero, o que diminui sua solubilidade e favorece a adsorção.
hirahata <i>et al.</i> (2003)	Lectina	Superfície plana de carboidratos em monocamada imobilizada com silício	A adsorção específica da molécula de proteína foi na região da superfície da monocamada, enquanto que a sua adsorção não específica foi observada na região Si-O.
Yu <i>et al.</i> (2009a)	Proteína A	Superfície de dimetil polissiloxano (PDMS)	A morfologia da proteína adsorvida é significativamente afetada pelo pH e o pI, quando afastado do ponto isoelétrico (pI) da proteína, pode produzir repulsão elétrica ao alterar a conformação da proteína, embora os resultados mostram o elevado volume de proteína adsorvida na superfície.
Liu <i>et al.</i> (2014)	BSA	Microesferas de poli [estireno (ácido acrílico)]/Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	As microesferas apresentam excelente capacidade de adsorção e podem ser usadas na separação de células, na imobilização de enzimas e na purificação de proteínas.

Fonte: desenvolvida pela autora.



## **4. MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1 MATERIAL**

Os frutos do jaracatiá [*Carica quercifolia* (A. St.-Hil.) Hieron] foram fornecidos pela EPAGRI, Estação Experimental de Campos Novos/SC e enviados ao LASIPO/ENQ/UFSC. Estes permaneceram congelados a 253 K (-20 °C) até o momento da extração. Uma amostra da planta (exsicata) com os frutos, galhos e folhas do jaracatiá [*Carica quercifolia* (A. St.-Hil.) Hieron] foi depositada no Herbário do Instituto de Biociências (Herbário ICN) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul sob o número de tombo ICN 173708.

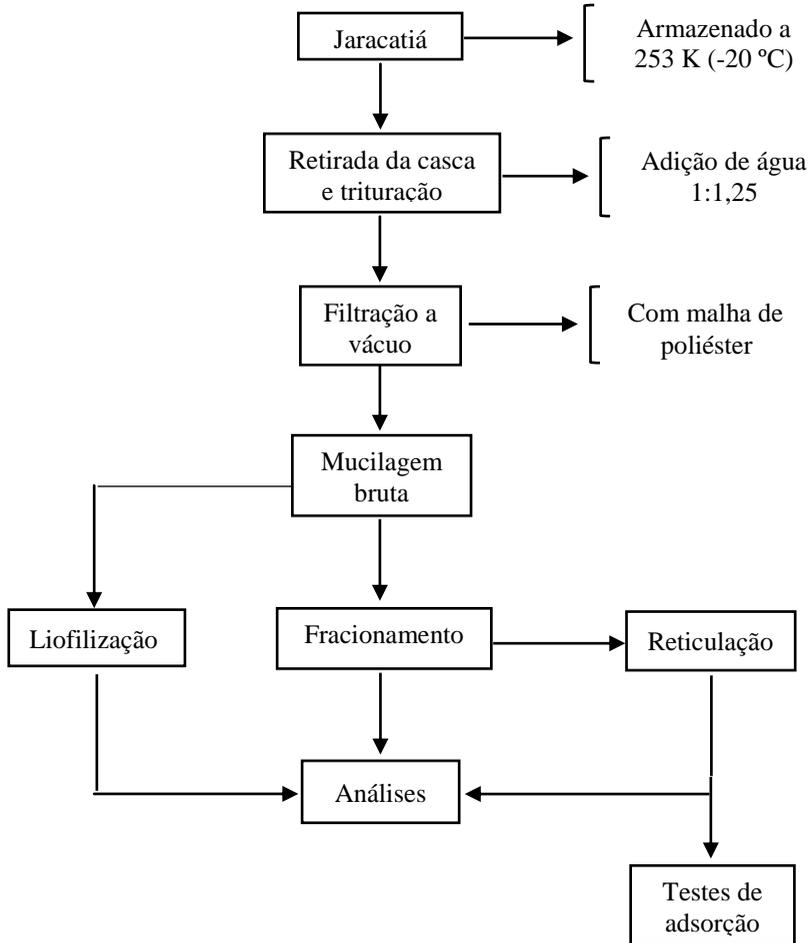
A papaína (EC 3.4.22.2) é uma enzima proteolítica, extraída do látex do fruto verde do mamão (*Carica papaya* L.). Purificada encontra-se sob a forma de um pó higroscópico, de coloração variando do branco até o amarelado (MERCK INDEX, 1996). Papaína pura da marca Vetec foi utilizada.

### **4.2 MÉTODOS**

#### **4.2.1 Processo de obtenção dos adsorventes**

Na Figura 6 é mostrado o fluxograma do processo de obtenção da mucilagem de jaracatiá bruta, liofilizada, precipitada e reticulada. Em seguida, cada etapa foi descrita.

Figura 6 - Fluxograma do processo de obtenção da mucilagem de jaracatiá.



### a) Extração

Estudos prévios foram realizados para definir a melhor proporção de polpa com as sementes e água para a extração da mucilagem, já que a mucilagem muito diluída dificulta a precipitação, diminuindo o rendimento. Pela grande quantidade de sementes e dificuldade na retirada das mesmas foi optado por utilizar a polpa com as sementes. A mucilagem bruta [proporção polpa com as sementes/água de 1:1,25 ( $m \cdot v^{-1}$ )] foi extraída do jaracatiá descascado e triturado em

liquidificador, com cuidado para triturar o mínimo possível as sementes. Em seguida foi realizada a filtração a vácuo utilizando malha de poliéster.

#### b) Liofilização

A mucilagem bruta foi liofilizada para posterior realização das análises, pois a safra do jaracatiá é anual. A liofilização também é importante, pois assim consegue-se uma amostra mais homogênea garantindo a padronização para as análises. Os parâmetros utilizados para liofilização foram: tempo de 24 h, temperatura do condensador de 213 K (-60 °C) e pressão de 50 µmHg. O equipamento utilizado foi da marca Liotop, modelo L101 (Brasil). A mucilagem de jaracatiá liofilizada obtida foi desintegrada com almofariz e pistilo, sendo armazenada em frasco plástico com tampa a temperatura ambiente em dessecador com sílica gel. A liofilização foi realizada no Laboratório de Propriedades Físicas de Alimentos do Departamento de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina.

#### c) Fracionamento

Após a extração e filtração, a mucilagem bruta foi precipitada com etanol 92,8 °GL na proporção 1:3 (v·v<sup>-1</sup>), o precipitado foi seco em estufa 313 K (40 °C) por 48 h, desintegrado e armazenado em frasco plástico com tampa a temperatura ambiente em dessecador com sílica gel.

#### d) Reticulação

A reticulação seguiu o método de Teixeira-Sá *et al.* (2009), o qual recomenda o uso de 1 g de mucilagem precipitada, 0,3 mL de epicloridrina e 3 mL de solução de hidróxido de sódio 3 M, incubando-se por 24 h a 313 K (40 °C) e na sequência 12 h a 343 K (70 °C). O reticulado foi lavado com água destilada em uma peneira para retirar o excesso de NaOH, até a água atingir pH neutro. Em seguida, este foi armazenado em solução de NaCl 0,15 M, e mantido a 5 °C até o momento do uso.

Para a substituição da epicloridrina por ácido cítrico usou-se como base o método descrito por Thomas *et al.* (2009) com algumas adaptações pois no presente trabalho não era objetivo a produção de

filmes. A proporção entre os reagentes e a amostra foi mantida. Em 1 g de mucilagem precipitada foi adicionado 0,8 mL de solução de ácido cítrico 50 % e 0,5 mL de solução de ácido *p*-tolueno-sulfônico 20 %. Após cada adição foi realizada a homogeneização. O processo de aquecimento, de lavagem e armazenamento foi semelhante ao da reticulação com epiclorigrina.

#### 4.2.2 Rendimento

O rendimento foi avaliado, considerando para isso a massa inicial e final de amostra em cada etapa do processo. Os jaracatiás foram pesados e descascados e assim calculado o percentual de casca e polpa com as sementes. O rendimento da mucilagem liofilizada e precipitada foi medido em relação à quantidade de polpa com as sementes, na qual o material foi pesado no início e no final de cada etapa para verificar o rendimento total após a liofilização e a precipitação. Para o rendimento após a reticulação, a mucilagem precipitada foi pesada e, após a reticulação, o material foi seco e novamente pesado a fim de verificar o rendimento em relação à massa inicial.

#### 4.2.3 Análises químicas

##### 4.2.3.1 Umidade

A análise de umidade foi realizada por secagem direta em estufa a 378 K (105 °C) (IAL, 2008), onde 5 g da amostra foi mantida por 5 h na estufa, sendo então resfriada e pesada. A operação de aquecimento e resfriamento foi realizada até massa constante. Os teores de umidade foram calculados pela diferença entre as massas inicial e final das amostras. Para o cálculo da porcentagem de umidade ( $m \cdot m^{-1}$ ) foi utilizada a Equação (13):

$$U(\%) = \frac{100 \times N}{P}, \quad (13)$$

onde P é a massa da amostra (g) e N é a perda de massa (g).

#### 4.2.3.2 Lipídios

A concentração de lipídios foi determinada utilizando o kit de análise rápida (método enzimático-colorimétrico Analisa, comercializado por Gold Analisa Diagnóstica Ltda). A concentração da mucilagem liofilizada e da precipitada analisada foi de 0,1 % (m·v<sup>-1</sup>). Os reagentes utilizados foram: padrão (glicerol equivalente a 230 mg·dL<sup>-1</sup> de trioleína) e reagente de cor (tampão PIPES 45 mmol·L<sup>-1</sup> pH 7,0, 4-clorofenol 6 mmol·L<sup>-1</sup>, cloreto de magnésio 5 mmol·L<sup>-1</sup>, lipase 100 U·mL<sup>-1</sup>, glicerol quinase 1,5 U·mL<sup>-1</sup>, glicerol-3P-oxidase 4 U·mL<sup>-1</sup>, peroxidase 0,8 U·L<sup>-1</sup>, 4-aminoantipirina 0,75 mmol·L<sup>-1</sup> e ATP 0,9 mmol·L<sup>-1</sup>).

Os tubos de ensaio foram identificados como “branco”, “teste” e “padrão” e foram preparados de acordo com as quantidades indicadas na Tabela 4.

Tabela 4 - Valores utilizados dos reagentes do kit.

<b>Tubos</b>	<b>Branco</b>	<b>Teste</b>	<b>Padrão</b>
Amostra	-	20 µL	-
Padrão	-	-	20 µL
Reagente de cor	2000 µL	2000 µL	2000 µL

Fonte: Gold Analisa Diagnóstica Ltda.

As soluções foram agitadas e incubadas durante 15 min a temperatura ambiente. A leitura espectrofotométrica da amostra e do padrão foi realizada a 500 nm e o equipamento foi zerado com o branco.

A concentração de lipídios da amostra é obtida utilizando as Equações (14) e (15):

$$F_C = \frac{C_P}{A_P}, \quad (14)$$

onde  $F_C$  é o fator de calibração,  $C_P$  é a concentração do padrão (2300 mg·L<sup>-1</sup>) e  $A_P$  a absorvância do padrão.

$$C_T = F_C \times A_T, \quad (15)$$

onde  $C_T$  é a concentração do teste (mg·L<sup>-1</sup>),  $F_C$  o fator de calibração (mg·L<sup>-1</sup>) e  $A_T$  a absorvância do teste (amostra).

#### 4.2.3.3 Proteína

Dependendo da amostra, líquida ou sólida, foram utilizados métodos distintos para determinação de proteínas: Kjeldahl para composição proximal e Lowry para o acompanhamento da cinética de adsorção da papaína.

No método de Kjeldahl (GALVANI e GAERTNER, 2006), a determinação de proteínas baseia-se na quantificação de nitrogênio, sendo este convertido em proteína através de um fator de conversão (6,25). A digestão ácida ocorre com o aquecimento de 0,3 g de amostra (mucilagem liofilizada e a precipitada) e 5 mL de ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ) na presença de 2 g de catalisador (sulfato de cobre e sulfato de sódio) até que o carbono e o hidrogênio sejam oxidados. O nitrogênio proteico é reduzido e transformado em sulfato de amônio. Após a digestão, adiciona-se no tubo digestor 20 mL de água destilada e 3 gotas de fenoltaleína. Inicia-se, então, a destilação da amostra com adição de solução de NaOH 40 % para liberação da amônia que é volátil. Este gás é recolhido em um erlenmeyer com 10 mL de solução receptora (ácido bórico 2 %, solução alcoólica de vermelho de metila 0,1 % e solução alcoólica de verde de bromocresol 0,1 %) e 10 mL de água destilada, formando borato de amônia, o qual é recolhido até volume de 50 mL. O borato de amônia formado é titulado com uma solução ácida (HCl 0,1 M) padronizada para se determinar o teor de nitrogênio. O teor de proteína total foi calculado utilizando a Equação (16):

$$P(\%) = \frac{(V_A - V_B) \times f \times 0,1 \times 0,014 \times 100}{P}, \quad (16)$$

onde  $V_A$  é o volume de HCl 0,1 M utilizado na titulação da amostra (mL),  $V_B$  o volume de HCl 0,1 M gasto na titulação do branco (mL),  $f$  o fator de correção de nitrogênio em proteína (6,25) e  $P$  é a massa de amostra (g).

No método de Lowry *et al.* (1951), o teor de proteína solúvel é analisado pela reação colorimétrica. Para a análise da amostra, uma alíquota de 0,5 mL foi pipetada, adicionado 0,5 mL de solução de NaOH 1M e 4 mL do reagente de Lowry. O sistema foi, então, agitado e deixado em repouso por 10 min. Após foi adicionado 1 mL do reagente de *Folin-Ciocalteau* 0,5 M e deixado em repouso por 30 min. A absorbância da solução foi analisada em espectrofotômetro da marca BEL Photonics a 790 nm. A curva padrão utilizada foi determinada com solução aquosa de albumina de soro bovino (BSA) na faixa de

concentração de 0 a  $2000 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ . Os valores obtidos na leitura foram utilizados para o cálculos das concentrações correspondentes a partir da equação da reta obtida.

#### 4.2.3.4 Cinzas

A análise de cinzas foi realizada por aquecimento em temperatura de 823 K (550 °C) (IAL, 2008). Foram pesadas 5 g da amostra em uma cápsula de porcelana, previamente aquecida em mufla a 823 K (550 °C), resfriada em dessecador até temperatura ambiente e pesada. A amostra foi carbonizada em temperatura de 473 K (200 °C) e incinerada em mufla a 823 K (550 °C) até eliminação completa do carvão. Em seguida foi resfriada em dessecador até temperatura ambiente e pesada. As operações de aquecimento e resfriamento foram repetidas até massa constante. Para o cálculo da porcentagem de cinzas ( $\text{m}\cdot\text{m}^{-1}$ ) foi utilizada a Equação (17):

$$C(\%) = \frac{100 \times N}{P}, \quad (17)$$

onde P é a massa da amostra (g) e N a massa de cinzas (g).

#### 4.2.3.5 Carboidratos totais

A análise de carboidratos foi realizada pelo método colorimétrico fenol sulfúrico (DUBOIS *et al.* 1956), no qual foram utilizados 0,50 mL da solução com a amostra, 0,50 mL de solução aquosa de fenol a 5 % ( $\text{m}\cdot\text{v}^{-1}$ ) e 2,5 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . A mistura foi agitada e mantida em repouso por 20 minutos e interrompida com banho de gelo. Após o resfriamento foram realizadas leituras a 490 nm em espectrofotômetro (PG Instruments Ltd. Modelo T90+UV/VIS). A curva padrão utilizada foi determinada com solução aquosa de glucose na faixa de concentração de 0 a  $100 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ . Os valores obtidos na leitura foram utilizados para o cálculos das concentrações correspondentes a partir da equação da reta obtida.

#### 4.2.3.6 Açúcares redutores

O teor de açúcares redutores foi determinado pelo método colorimétrico do ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) (MILLER, 1959). Este método baseia-se na reação de oxidação do grupo aldeído presente nos açúcares redutores, mediante redução do DNS em condições alcalinas. Em um tubo de ensaio contendo 200  $\mu\text{L}$  da solução com a amostra foi adicionado 200  $\mu\text{L}$  de reativo DNS. A mistura foi aquecida em banho-maria a 373 K (100 °C) por 15 min, sendo, em seguida, resfriada em banho de gelo até temperatura ambiente. Após a estabilização da temperatura, foram adicionados 2 mL de água destilada e após 15 min, foi realizada a leitura a 540 nm em espectrofotômetro (PG Instruments Ltd. modelo T90+UV/VIS). A curva padrão foi determinada com solução aquosa de glicose na faixa de concentração de 0 a 100  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ . Os valores obtidos na leitura foram utilizados para o cálculos das concentrações correspondentes a partir da equação da reta obtida.

#### 4.2.3.7 Fibra alimentar total (FAT)

A análise de FAT foi realizada seguindo o método enzimático-gravimétrico (AOAC nº 991.43, 1995). Foi pesado 1 g da amostra em cadinho de vidro sinterizado preparado com celite, seco (quantificada a umidade, para efeito do cálculo final da fibra) e desengordurado (quantificado o teor de gordura, pelo mesmo motivo). Foi adicionada solução-tampão MES-TRIS pH 8,2, para dispersar a amostra e incubada com Termamyl 2X ( $\alpha$ -amilase) em agitador a 368-373 K (95-100 °C) por 35 min e após resfriada até 333 K (60 °C). Foi adicionada a Alcalase 2.4 LFG (protease) e incubada em agitador a 333 K (60 °C) por 30 min. O pH foi ajustado para 4,1-4,8. Após foi adicionada AMG 300L (amiloglicosidase) e incubada em agitador a 333 K (60 °C) por 30 min. Em todas estas etapas a agitação foi contínua. A mistura foi filtrada e o precipitado obtido foi lavado com acetona e etanol, seco em estufa, pesado e uma amostra foi encaminhada para análise do teor de proteína e outra para cinzas. A parte líquida obtida da filtração sofre adição de etanol para precipitar possíveis fibras solubilizadas. O resíduo é novamente filtrado e levado à estufa. Uma amostra do resíduo seco foi encaminhada a análise de proteína e outra para análise de cinzas. Para o cálculo da porcentagem de fibra alimentar foram utilizadas as Equações (18) e (19):

$$FAT = \frac{\left\{ \left[ \frac{R_1 + R_2}{2} \right] - P - C - B \right\}}{\frac{\{(M_1 + M_2)\}}{2}} \times 100, \quad (18)$$

sendo  $R_1$  e  $R_2$  as massas dos resíduos para amostra (mg), em duplicata;  $P$  é a massa da proteína (mg), determinados no primeiro e segundo resíduos;  $C$  é a massa das cinzas (mg), determinados no primeiro e segundo resíduos;  $B$  é a massa do branco (mg) e  $M_1$  e  $M_2$  são as massas iniciais das amostras (mg).

$$B = \left[ \frac{(BR_1 + BR_2)}{2} \right] - P_B - C_B, \quad \dots (19)$$

onde  $BR_1$  e  $BR_2$  são os pesos dos resíduos da determinação do branco (mg), em duplicata;  $P_B$  e  $C_B$  são os pesos de proteína e cinzas, respectivamente, determinados no primeiro e segundo resíduos do branco (mg).

#### 4.2.3.8 Atividade antioxidante

O método é baseado na captura do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH) por antioxidantes (BRAND-WILLIAMS, CUVELIER e BERSET, 1995). Uma alíquota de 100  $\mu$ L da amostra [0,1 % ( $m \cdot v^{-1}$ )] foi adicionada em 3,9 mL de solução de DPPH (0,06 mM). A mistura foi agitada e armazenada na ausência da luz à temperatura ambiente por 60 min e, em seguida, foi realizada a leitura da absorbância em 515 nm em espectrofotômetro (PG Instruments Ltd. modelo T90+UV/VIS). A Equação (20) foi utilizada para o cálculo de DPPH sequestrado (%):

$$DPPH_{sequestrado}(\%) = \frac{(A_0 - A_s)}{A_0} \times 100, \quad (20)$$

sendo  $A_0$  a absorbância da solução de DPPH e  $A_s$  a absorbância da amostra.

#### 4.2.3.9 Compostos fenólicos

A análise de compostos fenólicos seguiu o método descrito por Singleton e Rossi (1965), o qual utiliza o reagente de *Folin-Ciocalteu*. Foram pipetados 100  $\mu\text{L}$  de solução com a amostra [0,1 % ( $\text{m}\cdot\text{v}^{-1}$ )], padrão ou água destilada (branco) em balões volumétricos de 10 mL. Em seguida, foram adicionados 7 mL de água destilada e 500  $\mu\text{L}$  do reagente de *Folin-Ciocalteu*. A mistura foi agitada e incubada por 5 min à temperatura ambiente. Após esse período, foram adicionados 1,5 mL de solução de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  20 %. O volume foi completado até 10 mL com água destilada, agitado e deixado em repouso por 2 h a temperatura ambiente. A leitura foi realizada a 765 nm em espectrofotômetro (PG Instruments Ltd. modelo T90+UV/VIS). A curva padrão foi determinada com ácido gálico nas concentrações de 0 a 1000  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ . Os valores obtidos na leitura foram utilizados para o cálculos das concentrações correspondentes a partir da equação da reta obtida.

#### 4.2.3.10 Ácidos urônicos

A dosagem de ácidos urônicos foi realizada pelo método descrito por Blumenkrantz e Asboe-hansen (1973). Em 200  $\mu\text{L}$  de amostra [0,05 % ( $\text{m}\cdot\text{v}^{-1}$ )] foram adicionados 1200  $\mu\text{L}$  de solução de  $\text{H}_2\text{SO}_4$ /tetraborato de sódio 0,0125 M. A mistura foi aquecida em "banho maria" por 5 min. Após resfriar em banho de gelo foi adicionado 20  $\mu\text{L}$  de *m*-hidroxibifenil [0,15 % ( $\text{m}\cdot\text{v}^{-1}$ ) em NaOH 0,5 % ( $\text{m}\cdot\text{v}^{-1}$ )] e agitado. Após o resfriamento foram realizadas leituras a 520 nm em espectrofotômetro (BEL Photonics). A curva padrão utilizada foi determinada com solução aquosa de ácido galacturônico na faixa de concentração de 0 a 100  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ . Os valores obtidos na leitura foram utilizados para o cálculos das concentrações correspondentes a partir da equação da reta obtida.

#### 4.2.3.11 Cromatografia em camada delgada (TLC)

A cromatografia em camada delgada (TLC – *thin layer chromatography*) foi utilizada para verificar a composição monossacarídica e presença de ácidos urônicos. A análise foi realizada no Laboratório de Química de Carboidratos do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal do Paraná.

A amostra (5 mg) foi hidrólizada com 1000  $\mu\text{L}$  de ácido trifluoroacético 1 M e após analisada em placas de sílica-gel 60G

(Merck), com 10 cm de altura total (8 cm a partir da origem), utilizando como fase móvel a mistura de solventes acetato de etila:ácido acético: 1-propanol:água (4:2:2:1, v·v<sup>-1</sup>) (SASSAKI *et al.*, 2008) e revelada com orcinol-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (SKIPSKI, 1975). Os padrões utilizados foram: P1 [ramnose e ácido glucurônico (Rha e GlcA)], P2 [arabinose e ácido galacturônico (Ara e GalA)], P3 [galactose (Gal)] e P4 [glucose (Glc)]. Como os padrões tem tempo de migração diferente, é possível utilizar mais do que um no mesmo ponto.

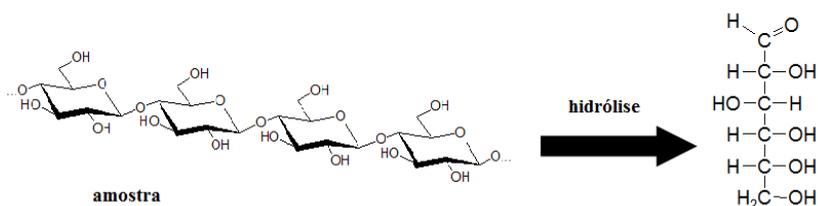
#### 4.2.3.12 Composição monossacarídica e ligações glicosídicas

As derivatizações químicas (hidrólise, metilação, redução e acetilação) foram realizadas com principal intuito de analisar os polissacarídeos presente na amostra.

##### a) Hidrólise

A mucilagem preipitada (5 mg) foi hidrolisada com 1000 µL de ácido trifluoroacético 1 M por 16 h em estufa a 373 K (100 °C). Decorrido o tempo de hidrólise, a amostra foi centrifugada e o ácido foi eliminado por evaporação sob fluxo de N<sub>2</sub> a temperatura ambiente. Após foi adicionado 1000 µL de água destilada e neutralizada com solução de amônia 25 %. Na Figura 7 está mostrada a reação de hidrólise.

Figura 7 - Reação de hidrólise.



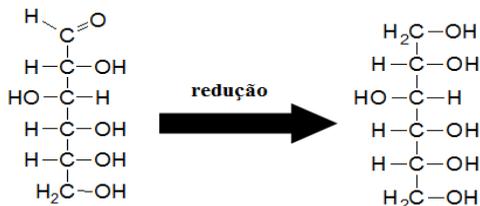
Fonte: desenvolvida pela autora.

##### b) Redução

O produto da hidrólise foi dissolvido em 300 µL de H<sub>2</sub>O e reduzido com 1 mg de boroidreto de sódio (NaBH<sub>4</sub>) a 100 °C *over night*. Após este período, a solução reduzida foi tratada com resina catiônica e o sobrenadante foi seco sob fluxo de N<sub>2</sub>. Em seguida, foi adicionado

1000  $\mu\text{L}$  de metanol e o boro foi coevaporado por 4 vezes (SASSAKI *et al.*, 2008). Na Figura 8 está mostrada a reação de redução.

Figura 8 - Reação de redução.

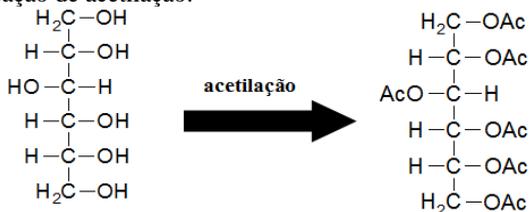


Fonte: desenvolvida pela autora.

### c) Acetilação

Os alditóis formados pela redução foram acetilados com 400  $\mu\text{L}$  de uma mistura de anidrido acético e piridina [1:1 ( $\text{v}\cdot\text{v}^{-1}$ )] à temperatura ambiente por cerca de 18 h, formando os acetatos de alditóis, os quais foram extraídos com 500  $\mu\text{L}$  de metanol. O metanol foi evaporado em temperatura ambiente sob fluxo de  $\text{N}_2$  (WOLFROM e THOMPSON, 1963a, b). Na Figura 9 está mostrada a reação de acetilação.

Figura 9 - Reação de acetilação.



Fonte: desenvolvida pela autora.

### d) Metilação

A mostra foi metilada pelo método de Ciucanu e Kerek (1984). A amostra (5 mg) foi solubilizada em dimetilsulfóxido (DMSO) (1 mL). Um excesso de NaOH triturado e seco foi adicionado à solução, seguido pela adição de iodeto de metila ( $\text{CH}_3\text{I}$ ) (1 mL), agitação vigorosa em vórtex por 1 h e repouso por 18 h em temperatura ambiente. A metilação foi interrompida com adição de 1 mL de água destilada e a solução neutralizada com ácido acético. A amostra metilada foi dialisada

(membrana marca Spectra/Por MWCO 12-14 kDa) por 24 h e, então foi rotaevaporado até completa remoção da água. O material foi hidrolisado com ácido fórmico 45 % (2 mL) a 373 K (100 °C) por 18 h, que em seguida foi evaporado. O material hidrolisado foi neutralizado com solução de amônia 25 %, evaporado, reduzido com boroidreto de sódio ( $\text{NaBH}_4$ ) e acetilado, de acordo com o método descrito acima. Os acetatos de alditóis parcialmente metilados foram analisados por CG-EM e identificados pelos seus tempos de retenção e perfis de fragmentação obtidos por ionização de elétrons (JANSSON *et al.*, 1976; SASSAKI *et al.*, 2005). Na Figura 10 está mostrado o esquema da reação de metilação.

Figura 10 - Esquema que representa a reação de metilação.



Fonte: desenvolvida pela autora.

#### e) Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM)

Após conversão dos monossacarídeos em seus respectivos derivados voláteis (acetatos de alditóis e acetatos de alditóis parcialmente metilados), a amostra foi analisada em CG-EM (cromatógrafo gasoso Varian (Palo Alto, USA), modelo 3800 e espectrômetro Varian, modelo Saturn 2000R). A detecção por massas foi feita por ionização eletrônica (70 eV), com analisador do tipo *Ion Trap*. A coluna utilizada na separação dos componentes foi uma coluna capilar DB-225-MS (J & W) (30 m × 0,25 mm × 0,25 μm); hélio (5.0 analítico) foi utilizado como gás de arraste a uma vazão de 1 mL·min<sup>-1</sup>. Durante a injeção da amostra a temperatura do injetor foi de 523 K (250 °C) e a da coluna de 323 K (50 °C) a 503 K (230 °C) para os acetatos de alditóis e 483 K (210 °C) para os acetatos de alditóis parcialmente metilados, com aumento programado de 313 K·min<sup>-1</sup> (40 °C·min<sup>-1</sup>) e mantida constante por 25 min. A análise foi realizada no Laboratório de Química de Carboidratos do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal do Paraná.

#### 4.2.3.13 Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

As amostras foram analisadas por espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) em um espectrofotômetro FTIR (Shimadzu modelo IRP Prestige-21 com detector DLATGS) na faixa espectral de 400 a 4000  $\text{cm}^{-1}$  e resolução de 2  $\text{cm}^{-1}$ , por transmissão em pastilhas de KBr de 7 mm de diâmetro (200-300 mg). A quantidade de amostra utilizada foi de 1 % em relação à massa de KBr. A análise foi realizada no Laboratório de Controle de Processos do Departamento de Engenharia Química da Universidade Federal de Santa Catarina.

#### 4.2.3.14 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN)

Os espectros de RMN (HSQC Edited) foram obtidos em um espectrômetro Bruker, modelo Magneto Ascend III HD, 600 MHz. A amostra (30 mg) foi dissolvida em  $\text{D}_2\text{O}$  à temperatura de 303 K (30 °C) e os deslocamentos químicos do  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  foram calibrados em relação ao sinal do ácido 2,2,3,3-tetradeutério-3-trimetilsililpropionico (TMSP- $d_4$ ). A análise foi realizada no Centro de Ressonância Magnética Nuclear do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal do Paraná.

#### 4.2.3.15 Grupos funcionais

A determinação dos grupos funcionais da superfície seguiu o método titulométrico de Boehm (BOEHM, 1994; BECK *et al.*, 2002; BOEHM, 2002; ZHAO *et al.*, 2005), no qual 1 g de amostra foi colocado em contato com 50 mL das seguintes soluções: hidróxido de sódio (NaOH 0,1 M), carbonato de sódio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$  0,1 M), bicarbonato de sódio ( $\text{NaHCO}_3$  0,1 M) e ácido clorídrico (HCl 0,1 M). Os frascos foram selados e agitados em shaker por 24 h. Após este período, uma alíquota de 10 mL foi filtrada, no qual o excesso de base ou ácido foi titulado com solução de HCl 0,1 M e NaOH 0,1 M, respectivamente. O número de grupos ácidos foi determinado usando a consideração de que NaOH neutraliza grupos carboxila, lactonas e fenólicos, que o  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  neutraliza grupos carboxílicos e lactonas e que o  $\text{NaHCO}_3$  neutraliza somente os grupos carboxílicos. O número de sítios básicos foi calculado, com base na quantidade de HCl que reagiu com a amostra.

Todas as análises químicas foram realizadas em duplicata.

#### 4.2.4 Análises físicas

##### 4.2.4.1 Análise termogravimétrica (TG/DTG)

Para a realização da análise termogravimétrica foram utilizadas cerca de 5 - 10 mg de amostra, as quais foram colocadas em cadinho de platina e analisadas em equipamento Netzsch STA modelo 449 F3 Jupiter com faixa de temperatura de 298 a 973 K (25 a 700 °C), com taxa de aquecimento de  $283 \text{ K}\cdot\text{min}^{-1}$  ( $10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ ) e vazão de nitrogênio de  $20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ . A análise foi realizada no Laboratório de Controle de Processos do Departamento de Engenharia Química da Universidade Federal de Santa Catarina.

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

As imagens microscópicas foram obtidas utilizando o microscópio eletrônico de varredura JEOL JSM-6390LV convencional com filamento de tungstênio do Laboratório Central de Microscopia Eletrônica (LCME) da UFSC. As amostras foram recobertas de ouro (sputtering). A granulometria da amostra foi padronizada em 150  $\mu\text{m}$ .

##### 4.2.4.3 Caracterização textural

A área superficial foi determinada pela da isoterma de adsorção-dessorção de nitrogênio a 77 K (196 °C) utilizando um analisador Quantachrome Instruments – Autosorb-1, o qual calcula a área superficial pelo modelo matemático BET (BRUNAUER, EMMETT e TELLER, 1938). A análise foi realizada na Central de Análises do Departamento de Engenharia Química da Universidade Federal de Santa Catarina.

##### 4.2.4.4 Ponto isoelétrico (pI)

O método proposto por Ferro-García *et al.* (1998) foi utilizado na determinação do ponto isoelétrico, pI. Em em frascos Erlenmeyer foram adicionados 50 mL de solução de cloreto de sódio (NaCl 0,01 M) e ajustado o pH com solução de ácido clorídrico (HCl 0,1 M) ou hidróxido de sódio (NaOH 0,1 M) para se obter valores de pH entre 1 e

12. Em seguida, 0,10 g de mucilagem precipitada reticulada foi adicionada em cada frasco e estes foram agitados em shaker à temperatura ambiente por 24 h. Após esse período, o pH de equilíbrio foi medido. A análise foi realizada em duplicata.

#### 4.2.4.5 Tensão superficial

A tensão superficial das amostras foi determinada usando um goniômetro (Raamé-Hart Inst. Co. modelo 250-F1) pelo método da gota pendente (PICHOT, DELAIR e ELAISSARI, 1997). Soluções aquosas da fração solúvel da mucilagem liofilizada nas concentrações variando de 0,1 a 1,0 g·L<sup>-1</sup> foram suspensas em tubo capilar. A partir da gota que se forma no capilar, registrada por uma câmera digital, foi determinada a tensão superficial. A análise foi realizada em duplicata, no Laboratório de Controle de Processos do Departamento de Engenharia Química da Universidade Federal de Santa Catarina.

#### 4.2.4.6 Reologia

Para análise do comportamento do fluido foi preparada uma solução aquosa de mucilagem precipitada na concentração de 1,6 g·L<sup>-1</sup>, a qual foi deixada em agitação constante e temperatura ambiente por 24 h. As leituras da viscosidade aparente foram realizadas na faixa de velocidade de 10 a 100 rpm na temperatura de 297 K (24 °C) em um viscosímetro Thermo Haake ViscoTester 6L da Central de Análises do Departamento de Engenharia Química e de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina.

### 4.2.5 Atividade antimicrobiana

O método utilizado para a análise antimicrobiana foi o de difusão em disco (NCCLS, 2003). Foram utilizados microrganismos com potencial de desenvolvimento em alimentos, sendo uma espécie Gram-positiva (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923) e outra Gram-negativa (*Escherichia coli* ATCC 25992), adquiridas da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), Rio de Janeiro. A análise foi realizada no Laboratório de Biotecnologia do Instituto Federal Catarinense – Campus Concórdia/SC.

#### a) Ativação das cepas

As cepas foram mantidas a 253 K (-20 °C) e, durante os ensaios, repicadas a cada 15 dias para tubos contendo ágar triptose de soja (TSA) mantidos a 269 K (4 °C). As culturas em TSA foram posteriormente repicadas para ágar sangue e incubadas a 308 K (35 °C) por 12-18 h a fim de se verificar a morfologia das colônias e a pureza da cultura. A partir destas placas, tomou-se de 3 a 5 colônias isoladas e transferiu-se para o caldo triptose de soja (TSB), incubado a 308 K (35 °C) por 2 a 6 h, a fim de obter-se uma cultura em crescimento ativo.

#### b) Preparação do inóculo

O inóculo foi preparado a partir da cultura ativa de cada espécie, diluída em solução salina 0,9 g·100 mL<sup>-1</sup> a uma concentração de aproximadamente 10<sup>7</sup> UFC·mL<sup>-1</sup> e comparado com a escala 0,5 de McFarland, verificada espectrofotometricamente a 625 nm e denominada de suspensão bacteriana.

#### c) Inoculação e incubação dos microrganismos

A suspensão contendo a cultura já preparada e diluída em 10<sup>7</sup> UFC·mL<sup>-1</sup> foi utilizada para inocular placas de Petri contendo ágar Mueller-Hinton (Oxoid-USA), utilizando-se *swab* estéril por estriamento. O agente ativo foi testado quanto à atividade antimicrobiana através do método de disco-difusão (NCCLS, 2003). Foram aplicados 25 µL da solução teste contendo 300 mg·kg<sup>-1</sup> de metabissulfito de potássio (MBSK) em discos de papel filtro estéreis Whatmann 3, de 9 mm de diâmetro e 250 g·m<sup>-2</sup> de gramatura. Os discos foram depositados sobre as placas inoculadas que foram incubadas a 309 K (36 °C) por 18-24 h. Antibióticos comerciais como a ampicilina (10 µg·disco<sup>-1</sup>) e o cloranfenicol (30 µg·disco<sup>-1</sup>) foram usados como controle positivo.

### 4.2.6 Avaliação dos processos de adsorção/dessorção

Nos testes de adsorção da papaína, foram utilizadas 1,5 g de mucilagem de jaracatiá reticulada para 50 mL da solução de papaína 0,4 % (m·v<sup>-1</sup>), à temperatura ambiente e sob agitação. O

acompanhamento da cinética foi realizado em espectrofotômetro no comprimento de onda de 280 nm.

Após os testes iniciais, foi desenvolvido um planejamento experimental fatorial completo  $2^3$  com triplicata no ponto central (Tabela 5), tendo como variáveis a temperatura, o pH e a concentração de papaína. Os níveis das variáveis em estudo são mostrados na Tabela 6. A análise dos resultados foi realizada utilizando o *software* Statistica®.

Tabela 5 - Planejamento fatorial completo  $2^3$  com triplicata no ponto central.

Ensaio	Temperatura (K / °C)	pH	Concentração de papaína (%)
1	-1	-1	-1
2	1	-1	-1
3	-1	1	-1
4	1	1	-1
5	-1	-1	1
6	1	-1	1
7	-1	1	1
8	1	1	1
9	0	0	0
10	0	0	0
11	0	0	0

Para cada condição foi mantido fixo o tempo de adsorção em 30 min, dado este obtido a partir dos resultados da cinética de adsorção, e a resposta obtida para o planejamento experimental foi a concentração de papaína adsorvida (q).

Tabela 6 - Níveis dos fatores utilizados para os testes de adsorção da papaína.

Nível	Temperatura (K / °C)	pH	Concentração de papaína (%)
-1	311 / 38	5,0	0,2
0	323 / 50	6,5	0,3
1	335 / 62	8,0	0,4

A faixa de estudo do pH e da temperatura foi delimitada a estes valores devido a sensibilidade da papaína e possível desnaturação proteica. A concentração de papaína máxima que se conseguiu solubilizar foi de 0,4 % ( $m \cdot v^{-1}$ ), devido a pouca solubilidade em água da papaína pura (Vetec).

A dessorção seguiu o método utilizado por Teixeira-Sá *et al.* (2009), o qual utiliza solução tampão acetato de sódio 0,1 M, pH 2,6, sendo que após o processo de adsorção, foi retirada toda a solução de papaína em contato com o adsorvente. Ao mesmo foi adicionado volume igual de solução tampão e mantido sob agitação.

A avaliação da quantidade adsorvida e recuperada de papaína foi realizada através da dosagem de proteínas pelo método de Lowry (1951) no sobrenadante.



## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Como a amostra era escassa, devido a dificuldade de obtenção dos frutos pela sazonalidade e pelo plantio reduzido, as análises de caracterização não foram realizadas igualmente para todas as amostras (mucilagem liofilizada, mucilagem precipitada, mucilagem reticulada com ácido cítrico e mucilagem reticulada com epicloridrina) e as repetições das análises em alguns casos não foi realizada. Sendo assim, os resultados estão expostos de acordo com a análise realizada.

### 5.1 RENDIMENTO

O rendimento foi avaliado em cada etapa do processo de obtenção dos adsorventes e para isso foi considerada a massa inicial e final de amostra (Tabela 7).

Tabela 7 - Avaliação do rendimento em cada etapa do processo.

<b>Amostra</b>	<b>Etapa/Processo</b>	<b>Rendimento (%)</b>
Fruto	Polpa com as sementes	66,66 ± 2,48
	Casca	33,34 ± 2,48
Mucilagem bruta	Mucilagem liofilizada	6,0 ± 2,86
	Fracionamento	1,19 ± 0,66
Mucilagem precipitada	Mucilagem reticulada com epicloridrina	37,93 ± 27,51
	Mucilagem reticulada com ácido cítrico	70,47 ± 12,21

Fonte: desenvolvida pela autora.

Para avaliação do rendimento foram utilizadas, em cada batelada, 300 g de jaracatiás. Depois de descascados, a massa total da polpa com as sementes foi de aproximadamente 200 g e de cascas 100 g, apresentando.

Após o fracionamento da mucilagem bruta verificou-se baixo rendimento, porém, quando se trata de produtos naturais este valor é aceitável, pois a constituição vegetal gira em torno de, pelo menos, 85 % de água no material “in natura”.

O valor encontrado na reticulação indica que parte da mucilagem não foi reticulada. Rendimentos maiores podem ser possíveis se as condições de operação para a reticulação forem otimizadas.

## 5.2 ANÁLISES QUÍMICAS

Na Tabela 8 são mostrados os resultados obtidos da composição proximal da mucilagem de jaracatiá liofilizada e da precipitada.

Tabela 8 - Composição proximal, atividade antioxidante e compostos fenólicos da mucilagem liofilizada (ML) e da mucilagem precipitada (MP) em base seca.

<b>Componente</b>	<b>ML</b>	<b>MP</b>
Cinzas (%)	10,14 ± 0,03	10,94 ± 0,32
Fibra alimentar (%)	5,51 ± 0,11	n.a.*
Carboidratos (%)	37,52 ± 1,96	15,23 ± 0,36
Açúcares redutores (%)	16,49 ± 1,52	Traços
Proteína (%)	16,04 ± 1,83	19,17 ± 1,44
Lipídios (%)	3,66 ± 0,50	Traços
Compostos fenólicos (mg·100 g <sup>-1</sup> EAG)	173,19 ± 3,97	14,95 ± 6,66
Atividade antioxidante (% DPPH sequestrado)	27,46 ± 1,30	1,70 ± 0,26

\*não analisado

DPPH: 2,2-difenil-1-picril-hidrazil; EAG: equivalente em ácido gálico

Fonte: desenvolvida pela autora.

Observa-se, assim, um fracionamento da mucilagem após o processo de precipitação, onde houve uma separação dos compostos de alta massa e ligados. Mudança significativa no teor de carboidratos pode ser explicada pela ausência de açúcares redutores neste material, pois os mesmos não são precipitáveis por álcool. Ainda assim, observa-se uma diferença de cerca de 22 % entre a mucilagem liofilizada e a mucilagem precipitada, as quais podem ser atribuídas a sacarídeos não redutores de baixa massa molar. Por outro lado, proteínas de alta massa molar e cinzas, provavelmente ligadas a estes polímeros, são sensíveis à desidratação do meio, sendo detectadas no produto obtido por precipitação alcoólica.

A mucilagem liofilizada apresentou teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante importantes e mais altas em relação à mucilagem precipitada. Podemos observar que em relação ao teor de compostos fenólicos houve uma redução acentuada após a precipitação com etanol, a qual pode estar relacionado com a extração dos mesmos pelo solvente. De acordo com Simões *et al.* (2007) os compostos fenólicos são solúveis em solventes polares. No entanto, de acordo com a

classificação adotada por Melo *et al.* (2008) para extratos de frutas, considera-se a ação antioxidante como forte quando tem-se sequestro de DPPH acima de 70 %, como moderada quando se encontra entre 50 e 70 % e abaixo de 50 % considera-se uma ação fraca. Assim, pode-se afirmar que a mucilagem liofilizada e a mucilagem precipitada mostraram fraca ação antioxidante. Como referência, ácido ascórbico, utilizado como agente antioxidante, apresenta capacidade antioxidante próxima a 100 % (MELO *et al.*, 2008).

Outros frutos como acerola, conhecida por acentuada propriedade antioxidante, apresenta  $2.193,40 \pm 21,97$  mg·100 g<sup>-1</sup> de compostos fenólicos (expressos em equivalente de catequina) e elevada atividade antioxidante, com sequestro DPPH superior a 90 %; o abacaxi apresenta  $78,79 \pm 6,63$  mg·100 g<sup>-1</sup> de compostos fenólicos e em torno de 40 % de atividade antioxidante (MELO *et al.*, 2008).

Vários compostos com ação antioxidante fazem parte da constituição de vegetais, em especial das frutas, dentre os quais pode-se citar o ácido ascórbico, carotenóides e polifenóis. Tais compostos variam em função do tipo vegetal, variedade e grau de maturação, bem como das condições climáticas e de cultivo (LEONG e SHUI, 2002).

Provavelmente a atividade antioxidante deve estar relacionada aos compostos fenólicos, pois quando avalia-se os resultados (Tabela 9) observa-se que quando o teor de compostos fenólicos reduz na mucilagem precipitada (MP) a atividade antioxidante também reduz.

### 5.2.1 Grupos funcionais

Os grupos funcionais da mucilagem liofilizada, da mucilagem precipitada, da mucilagem reticulada com epicloridrina e da mucilagem reticulada com ácido cítrico foram analisados por espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) e somente a mucilagem reticulada com ácido cítrico foi analisada também através do método titulométrico.

#### a) FTIR

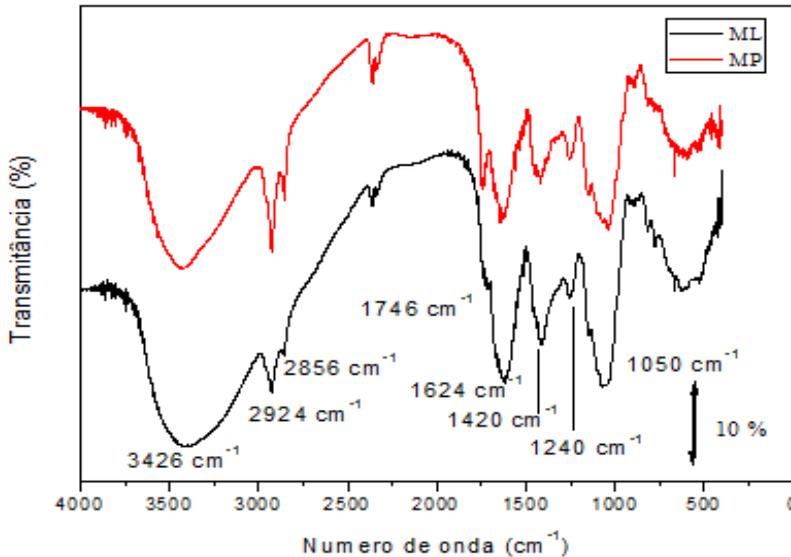
A análise dos grupos funcionais presentes na mucilagem liofilizada e na mucilagem precipitada foi realizada para caracterizar o material. Os espectros na região do infravermelho obtidos da mucilagem de jaracatiá liofilizada e da precipitada são mostrados na Figura 11.

A região de 3600-3000 cm<sup>-1</sup> representa os grupos OH e NH. A umidade normalmente é responsável por picos nessa região, sendo que a

mucilagem liofilizada apresentou  $2,91 \pm 0,49$  % e a precipitada  $7,15 \pm 0,14$  % de umidade. A diferença na forma desta banda pode estar associada à presença de resíduo de álcool utilizado na precipitação.

Analisando os espectros verifica-se um aumento na intensidade das bandas na faixa de absorção de  $2900-2800\text{ cm}^{-1}$  as quais são atribuídas às vibrações simétricas e assimétricas do grupamento C-H de metila e metilenos provenientes das unidades dos monossacarídeos (SILVERSTEIN, WEBSTER e KIEMLE, 2006; TAVARES *et al.*, 2011) e também pode decorrer do resíduo de álcool.

Figura 11 - Espectros de FTIR da mucilagem liofilizada (ML) e da mucilagem precipitada (MP).



Fonte: desenvolvida pela autora.

O aumento da banda em  $1725\text{ cm}^{-1}$ , pode estar associado ao estiramento de grupos carbonila (C=O) de ácido carboxílico (BARBOSA, 2007) ou éster (ABU-ILAIWI *et al.*, 2004) os quais correspondem aos ácidos urônicos; este aumento evidencia a concentração destes compostos com o processo de precipitação.

A banda em  $1630\text{ cm}^{-1}$  é conhecida como banda de amida I, que ocorre devido ao estiramento (C=O) de grupos peptídicos (OSIRO *et al.*, 2000); a leve diminuição observada, provavelmente se deve à

desnaturação das proteínas presentes na mucilagem ou à saturação do álcool.

Uma pequena redução da banda em  $1420\text{ cm}^{-1}$ , a qual pode ser atribuída às deformações simétricas dos grupos C-H e C-OH (WANG e SOMASUNDARAN, 2006) são associadas aos açúcares redutores.

Em  $1240\text{ cm}^{-1}$  observa-se uma banda de estiramento de grupos C-O que confirma a presença de grupos OH de fenol (BARBOSA, 2007); estes podem ser provenientes de compostos variados, como ácidos fenólicos, derivados de cumarina, pigmentos hidrossolúveis, ligninas, taninos ou ainda podem fazer parte de proteínas, alcalóides e terpenóides (SIMÕES *et al.*, 2007). Esta mesma banda em  $1240\text{ cm}^{-1}$  pode ser de amida III – grupos acetil pertencentes aos açúcares aminados (BOUHEDJA *et al.*, 1997; PRABU e NATARAJAN, 2012) ou de C-O de ésteres (BARBOSA, 2007).

A banda intensa em  $1050\text{ cm}^{-1}$  pode ser atribuída ao estiramento do anel piranosídico pertencente a açúcares do tipo *Glc*p, *Rhap*, *Gal*p, *Arap* e *Gal*pA. Absorções características também foram observadas na faixa de  $897$  a  $890\text{ cm}^{-1}$  as quais indicam as configurações  $\alpha$  e  $\beta$  das unidades de açúcar (CAI, GU e TANG, 2008).

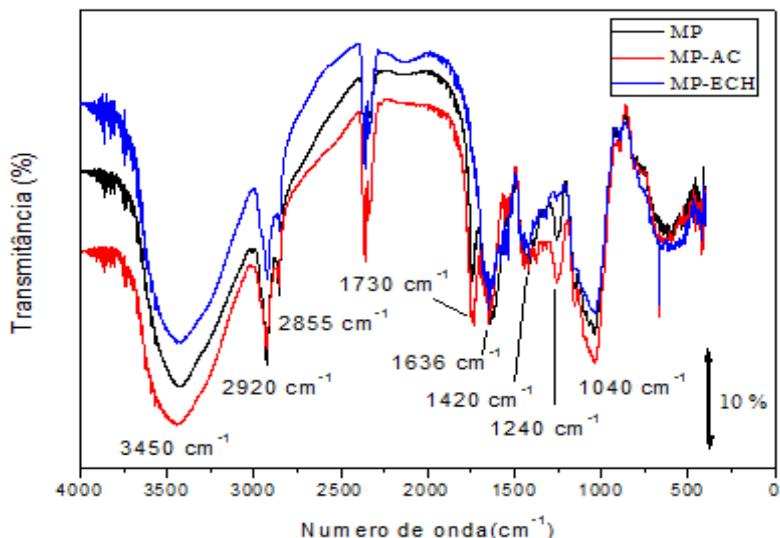
Os espectros na região do infravermelho obtidos da mucilagem de jaracatiá reticulada com epiclorigrina e ácido cítrico são mostrados na Figura 12.

Após a reticulação da mucilagem precipitada pode-se verificar algumas mudanças no espectro quando comparado com o da mucilagem precipitada.

Com o uso do ácido cítrico a banda em  $1730\text{ cm}^{-1}$  teve um aumento acentuado, indicando o estiramento de grupos carbonila (C=O) de ácido carboxílico (BARBOSA, 2007) ou de éster (ABU-ILAIWI *et al.*, 2004), confirmando, assim, que a reação de reticulação ocorre por esterificação. Já a banda em  $1630\text{ cm}^{-1}$  teve uma pequena redução, podendo esta ter ocorrido devido a desnaturação proteica.

Na reticulação com epiclorigrina a banda em  $1730\text{ cm}^{-1}$  característica do estiramento de grupos carbonila (C=O) de ácido carboxílico (BARBOSA, 2007) ou de grupos carbonila (C=O) de éster (ABU-ILAIWI *et al.*, 2004) e a banda de estiramento do grupo C-O de ésteres, em  $1240\text{ cm}^{-1}$  não foram visualizadas. A banda em  $1630\text{ cm}^{-1}$  apresentou uma pequena redução, podendo esta ter ocorrido devido à desnaturação proteica. A redução da banda em  $1420\text{ cm}^{-1}$  e a banda em  $1040\text{ cm}^{-1}$  podem estar associadas à reticulação.

Figura 12 - Espectros de FTIR da mucilagem precipitada (MP), da mucilagem reticulada com ácido cítrico (MP-AC) e da mucilagem reticulada com epiclorigrina (MP-ECH).



Fonte: desenvolvida pela autora.

## b) Método titulométrico

De acordo com os testes de adsorção, foi verificada maior quantidade adsorvida de papaína com a utilização na mucilagem reticulada com ácido cítrico. Por esta razão foi realizada a análise somente deste material. Na Tabela 9 são mostrados os valores obtidos na análise dos grupos funcionais da mucilagem reticulada com ácido cítrico.

Tabela 9 - Grupos funcionais da mucilagem reticulada com ácido cítrico.

<b>Grupo funcional</b>	<b>Concentração (mEqg<sup>-1</sup>)</b>
Básicos	ND*
Ácidos Carboxílicos	0,05
Lactonas	0,02
Fenólicos	0,01

\* não detectado pelo método

Fonte: desenvolvida pela autora.

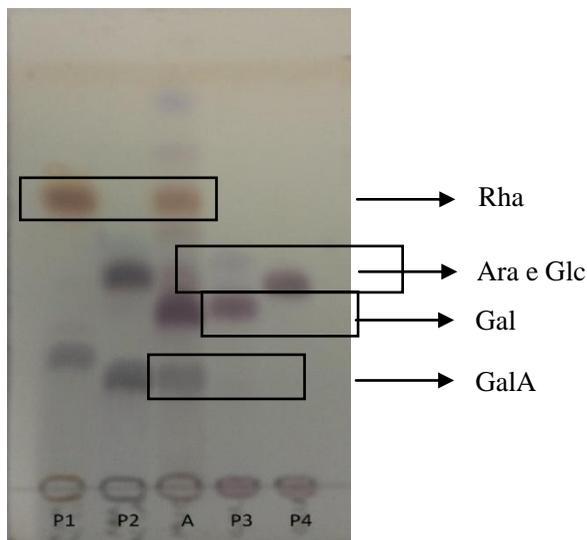
A partir da análise dos grupos funcionais o grupo em maior concentração foi dos ácidos, que engloba os ácidos carboxílicos, lactonas e fenólicos (Tabela 9). Então, de acordo com esse resultado, juntamente com do ponto isoelétrico (Fig. 16b), pode-se dizer que quando a mucilagem reticulada com ácido cítrico for utilizada para a adsorção em meio com pH acima de 3,91, a superfície estará desprotonada e negativamente carregada exercendo atração preferencial sobre cátions.

O FTIR também corrobora com esse resultado dos ácidos carboxílicos e lactonas pela presença da banda característica acentuada em  $1730\text{ cm}^{-1}$ , assim como os grupos fenólicos em  $1240\text{ cm}^{-1}$  (Fig. 12).

### **5.2.2 Composição monossacarídica**

A Figura 13 apresenta o resultado obtido por cromatografia em camada delgada (TLC) da mucilagem precipitada. Os padrões utilizados foram: P1 [ramnose e ácido glucurônico (Rha e GlcA)], P2 [arabinose e ácido galacturônico (Ara e GalA)], P3 [galactose (Gal)] e P4 [glucose (Glc)], os quais possuem migrações diferentes, permitindo, assim, a possível identificação dos monossacarídeos presentes na mucilagem precipitada (A).

Figura 13 - Cromatografia em camada delgada (TLC) da mucilagem precipitada.



Fonte: desenvolvida pela autora.

A cromatografia em camada delgada foi realizada, principalmente, para verificar a presença de açúcares ácidos, pois apenas nesta análise consegue-se verificar a presença de ácidos urônicos. Já os açúcares neutros são analisados e quantificados por CG-EM.

A análise indicou a presença de arabinose (Ara), ramnose (Rha), galactose (Gal), glucose (Glc) e ácido galacturônico (GalA) (Fig. 13).

Esse resultado evidencia a presença de pectina, abundante em frutos, a qual é quimicamente constituída de polímeros do ácido galacturônico (GalA) e 6- *O*-Me-GalA, podendo apresentar intercalações de ramnose (Rha) e ramificações contendo galactose (Gal), arabinose (Ara) ou xilose (Xyl) (SCHNEEMAN, 1986; BRUNETON, 1993).

Os derivados acetatos de alditóis analisados por meio de CG-EM mostraram a presença de Rha, Ara, Xyl, Gal e Glc como componentes monossacarídicos da mucilagem precipitada (Tabela 10).

Tabela 10 - Composição monossacarídica da mucilagem precipitada.

Monossacarídeo	%
Rha	15,94
Ara	2,55
Xyl	2,76
Man	2,26
Gal	52,62
Glc	5,96
Ácidos urônicos*	17,91

\* Equivalente em GalA, determinado por método espectrofotométrico

Fonte: desenvolvida pela autora.

O GalA foi o único monossacarídeo ácido (ácido urônico) identificado por cromatografia em camada delgada (Fig. 13). Os monossacarídeos neutros majoritários encontrados na mucilagem precipitada são a Gal, Rha, Glc e GalA (Tabela 10), o que pode sugerir a presença de ramnogalacturonanas. Ramnogalacturonanas tipo I e II são constituintes da pectina. Esses polissacarídeos são formados por longas seqüências de ácido  $\alpha$ -D-poligalacturônico, descontinuadas por unidades de  $\alpha$ -L-Rhap (CARPITA e GIBEAU, 1993).

A mucilagem possui composição monossacarídica muito variada, a qual depende da matéria prima vegetal utilizada para a extração. Esta mesma análise, para a mucilagem de *Opuntia ficus indica* (GINESTRA *et al.*, 2009) mostrou a presença de fucose (Fuc), arabinose (Ara), xilose (Xyl), manose (Man), galactose (Gal), glucose (Glc) e ácido galacturônico (GalA). A mucilagem de *Opuntia milpa alta* tem como açúcares neutros Rha, Ara, Xyl, Man, Glc e Gal (CAI, GU e TANG, 2008) e a de inhame (*Dioscorea batatas*) apresentou principalmente, Man, Glc e Gal (LIU *et al.*, 2008).

### 5.2.3 Análise do polissacarídeo

Os acetatos de alditóis parcialmente metilados da mucilagem precipitada (Tabela 11) mostram 2,6 % de arabinofuranose (Araf) com terminal não redutor, pela presença de 2,3,5-*O*-Me3-Ara e 4,6 % de arabinofuranose (Arap) com terminal não redutor pela presença de 2,3,4-*O*-Me3-Ara. Galactopiranosose (Galp) com terminal não redutor também foi identificado pela presença de 2,3,4,6-*O*-Me4-Gal (21,5 %). Outros derivados metilados também estão presentes na mucilagem precipitada: 3,4-*O*-Me2-Rha (10,0 %), 2,3-*O*-Me2-Ara (3,8 %), 3-*O*-

Me-Rha (4,7 %), 2,3,6-*O*-Me3-Gal (40,6 %), 2,3,4-*O*-Me3-Gal (6,0 %) e 2,3-*O*-Me2-Gal (6,3 %).

Tabela 11 - Acetatos de alditóis parcialmente metilados presentes na mucilagem precipitada (MP).

<b>Derivado metilado</b>	<b>Ligação</b>	<b>MP (%)</b>
2,3,5- <i>O</i> -Me3-Ara	Terminal não redutor	2,6
2,3,4- <i>O</i> -Me3-Ara	Terminal não redutor	4,6
3,4- <i>O</i> -Me2-Rha	→2	10,0
2,3- <i>O</i> -Me2-Ara	→4 ou →5	3,8
2,3,4,6- <i>O</i> -Me4-Gal	Terminal não redutor	21,5
3- <i>O</i> -Me-Rha	→2 e (→4 ou 5)	4,7
2,3,6- <i>O</i> -Me3-Gal	→4	40,6
2,3,4- <i>O</i> -Me3-Gal	→6	6,0
2,3- <i>O</i> -Me2-Gal	→4 e →6	6,3

Fonte: desenvolvida pela autora.

Arabinogalactanas do tipo I e do tipo II são classificadas de acordo com sua cadeia principal. As primeiras têm uma cadeia principal formada por unidades de  $\beta$ -D-Galp (1→4)-ligadas, geralmente associadas a ramnogalacturonanas tipo I, enquanto as últimas têm uma cadeia principal constituída por unidades de  $\beta$ -D-Galp (1→3)-ligadas, substituída por cadeias laterais de  $\alpha$ -D-Galp (1→6)-ligadas (CARPITA e GIBEAUT, 1993). A presença de arabinogalactana do tipo I foi confirmada pela grande quantidade do derivado metilado 2,3,6-*O*-Me3-Gal (→4)-ligado (40,6 %).

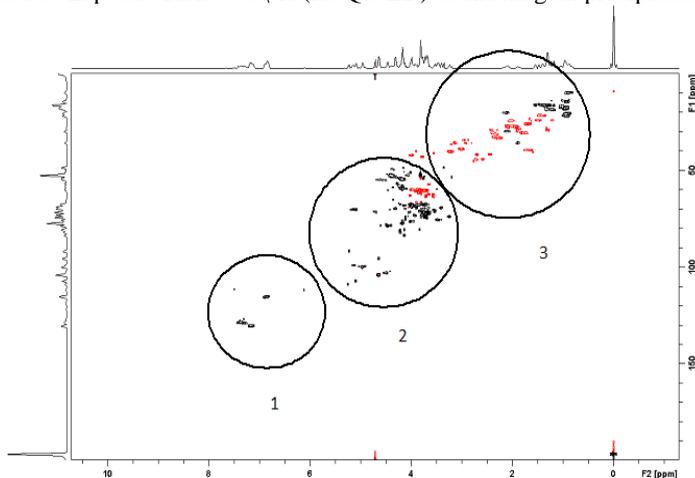
A cadeia principal de ramnogalacturonanas é muitas vezes substituída por cadeias laterais de arabinanas, galactanas ou arabinogalactanas. Unidades terminais não redutoras de arabinose e cadeias de  $\alpha$ -L-Araf *O*-3 e/ou *O*-5 substituídas estão presentes em ambos os tipos de arabinogalactanas (CARPITA e GIBEAUT, 1993). O derivado metilado 2,3-*O*-Me2-Gal (→4 e →6)-ligadas confirma essa presença.

As principais classes estruturais dos polissacarídeos péclicos são: homogalacturonana, xilogalacturonana, ramnogalacturonana tipos I

e II, arabinana, galactana e arabinogalactanas tipos I e II (CARPITA e McCANN, 2000).

A mucilagem precipitada foi solubilizada em água deuterada ( $D_2O$ ) e a amostra não solubilizou totalmente, por isso o espectro RMN representa somente o material solúvel. Na Figura 14 é mostrado o espectro RMN- $^{13}C\{^1H$  (HSQC-ED) geral, no qual pode-se apontar regiões características, ou seja, região 1 (insaturações características de aminoácidos aromáticos), região 2 (característica de carboidratos) e região 3 (característica de proteínas), os sinais pretos representam CH e  $CH_3$  e sinais vermelhos representam  $CH_2$ .

Figura 14 - Espectro RMN- $^{13}C\{^1H$  (HSQC-ED) da mucilagem precipitada.



Fonte: desenvolvida pela autora.

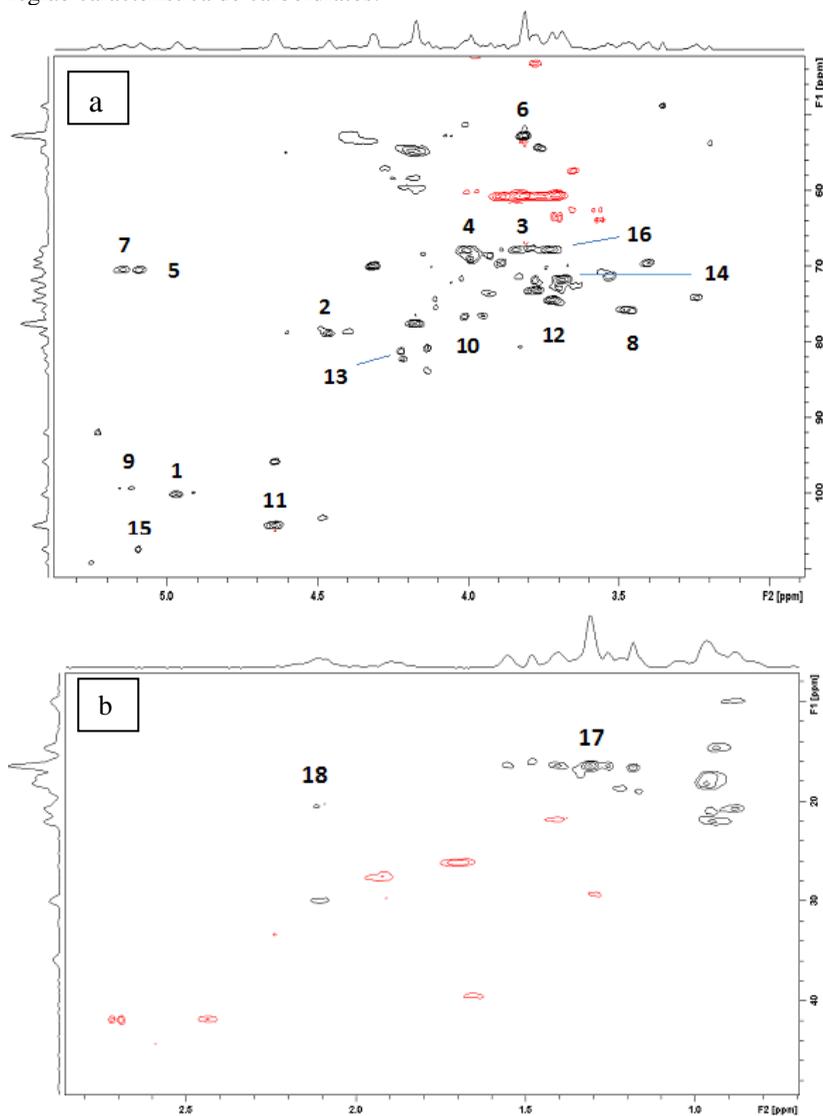
As principais unidades dos carboidratos presentes na mucilagem precipitada estão apresentados na Figura 15a e b aonde são mostrados os espectros RMN- $^{13}C\{^1H$  (HSQC-ED). Sendo que os principais deslocamentos químicos ( $\delta$ ) estão indicados por números, os quais sugerem a presença de unidades do  $\alpha$ -D-GalpA com deslocamento químico em  $\delta$  100,07/4,97 (C-1/H-1) [1]. A presença de pectina foi confirmada pela detecção de unidades do  $\alpha$ -D-GalpA(1 $\rightarrow$ 4)-ligadas, com sinal característico em  $\delta$  78,81/4,47 (C-4/H-4) [2] e a confirmação ocorre pela presença de outros sinais de unidades do GalpA em  $\delta$  67,55/3,80 (C-2/H-2) [3],  $\delta$  69,00/3,99 (C-3/H-3) [4] e 70,41/5,09 (C-5/H-5) [5] (CIPRIANI *et al.*, 2004; OVODOVA *et al.*, 2009; POPOV *et al.*, 2011).

Os sinais do HSQC-ED em  $\delta$  99,22/5,12 (C-1/H-1) [9],  $\delta$  76,61/4,01 (C-2/H-2) [10] e 16,44/1,30 (C-6/H-6) [17] representam unidades de  $\alpha$ -L-Rhap (1 $\rightarrow$ 2)-ligadas de uma ramnogalacturonana (RENARD *et al.*, 1998). O sinal em  $\delta$  52,68/3,81 [6] é do metil éster ( $-\text{CO}_2\text{CH}_3$ ) de unidades do GalpA e que usualmente são de ramnogalacturonanas do tipo I. Porém, o sinal em  $\delta$  70,6/5,16 (C-5/H-5) [7] sugere também a presença de unidades de GalpA não esterificado (RENARD *et al.*, 1998; OVODOVA *et al.*, 2009; POPOV *et al.*, 2011). Quando as unidades de GalpA estão substituídas em O-2, o sinal de GalpA (C-2/H-2) aparece em  $\delta$  76,7/3,46 [8].

Grupos acetil também podem estar presentes nas ramnogalacturonanas, frequentemente como substituintes de O-2 ou O-3 das unidades de GalpA (LEROUGE *et al.*, 1993; POPOV *et al.*, 2011). Quando ocorre essa substituição, os deslocamentos químicos do C-2/H-2 e C-3/H-3 das unidades de 6-O-Me-GalpA aparecem sobrepostos ao sinal  $\delta$  70,6/5,16 (C-5/H-5) [7] (POPOV *et al.*, 2011). Um sinal típico de  $\text{CH}_3$  dos grupos acetil está presente em  $\delta$  20,43/2,12 [18]. Sendo assim, estes grupos podem sim estar presentes no polissacarídeo. A mucilagem de jaracatiá é, portanto, composta por uma porção de arabinogalactanas do tipo II, provavelmente ligada a uma ramnogalacturonana.

O espectro de HSQC-ED contém os sinais  $\delta$  104,17/4,64 (C-1/H-1) [11] e  $\delta$  74,41/3,72 (C-4/H-4) [12] compatíveis com unidades de  $\beta$ -D-Galp (1 $\rightarrow$ 4)-ligadas e, em  $\delta$  81,4/4,22 (C-3/H-3) [13] de unidades de [ $\rightarrow$ 3,6)- $\beta$ -D-Galp-(1 $\rightarrow$ )] e em  $\delta$  72,7/3,71 (C-3/H-3) [14] de unidades de  $\beta$ -D-Galp O-6 substituídas (CARPITA e GIBEAUT, 1993).

Figura 15 - Espectro RMN- $^{13}\text{C}/^1\text{H}$  (HSQC-ED) da mucilagem precipitada na região característica de carboidratos.



Fonte: desenvolvida pela autora.

Arabinose é frequentemente encontrada como um componente ligado ao C-6 da  $\beta$ -D-Galp, aparecendo como unidades terminais ou

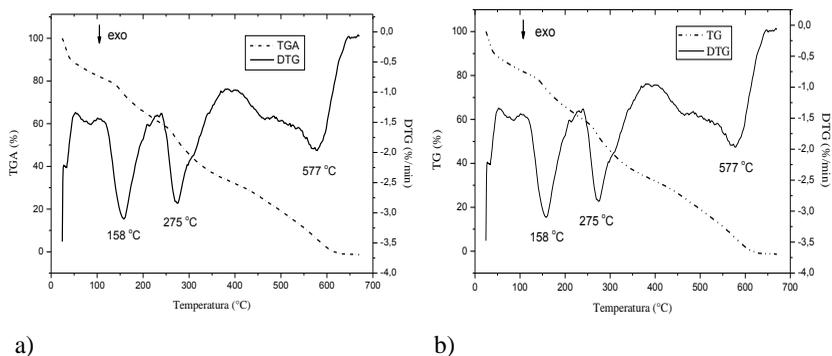
formando cadeias ligadas O-3 ou O-5 (CARPITA e GIBEAUT, 1993). O espectro HSQC-ED apresenta sinais típicos de unidades de  $\alpha$ -L-Araf (1 $\rightarrow$ 5)-ligadas em  $\delta$  107,34/5,10 (C-1/H-1) [15] e  $\delta$  67,75/3,73 (C-5/H-5) [16] (DELGOBO *et al.*, 1998).

## 5.3 ANÁLISES FÍSICAS

### 5.3.1 Análise térmica

As curvas das análises termogravimétricas (TG) e suas derivadas (DTG) obtidas para a mucilagem de jaracatiá liofilizada e precipitada são mostradas na Figura 16.

Figura 16 - Curvas da TG/DTG para a mucilagem liofilizada [ML (a)] e a mucilagem precipitada [MP (b)].



Fonte: desenvolvida pela autora.

De acordo com a Figura 16a e b foi possível obter as perdas de massa em função da temperatura para a mucilagem liofilizada e para a mucilagem precipitada, ambas em base seca (Tabela 12).

Em relação à estabilidade térmica pode-se observar que, tanto a mucilagem liofilizada como a precipitada tiveram comportamento idêntico, e que a primeira perda de massa, em torno de 20 %, ocorre entre 273-523 K (0-250 °C), a qual pode ser atribuída a perda dos compostos voláteis, grande parte correspondendo à evaporação de água contida na mucilagem (KITUR *et al.*, 2002; TAVARES *et al.*, 2011; SUN *et al.*, 2011). As perdas de massa subsequentes de 30 % [523-673 K (250 a 400 °C)] e 50 % [acima de 673 K (400 °C)] atribuídas à degradação e posteriormente, pela completa decomposição do material

(ZOHURIAAN e SHOKROLAHI, 2004; TAVARES *et al.*, 2011). Sendo assim, em relação à estabilidade térmica, a utilização da mucilagem liofilizada e da precipitada se torna inviável a temperaturas acima de 523 K (250 °C), ou seja, processos que ocorram acima desta temperatura podem levar à degradação e descaracterização do biopolímero, fazendo com que este perca suas aplicabilidades e propriedades funcionais.

Tabela 12 - Perda de massa em função da temperatura para a mucilagem liofilizada (ML) e para a mucilagem precipitada (MP).

Amostra	Faixa de temperatura (K / °C)	Perda de massa (%)
ML	273-523 / 0-250	20
	523-673 / 250-400	30
	673-973 / 400-700	50
MP	273-523 / 0-250	20
	523-673 / 250-400	30
	673-973 / 400-700	50

Fonte: desenvolvida pela autora.

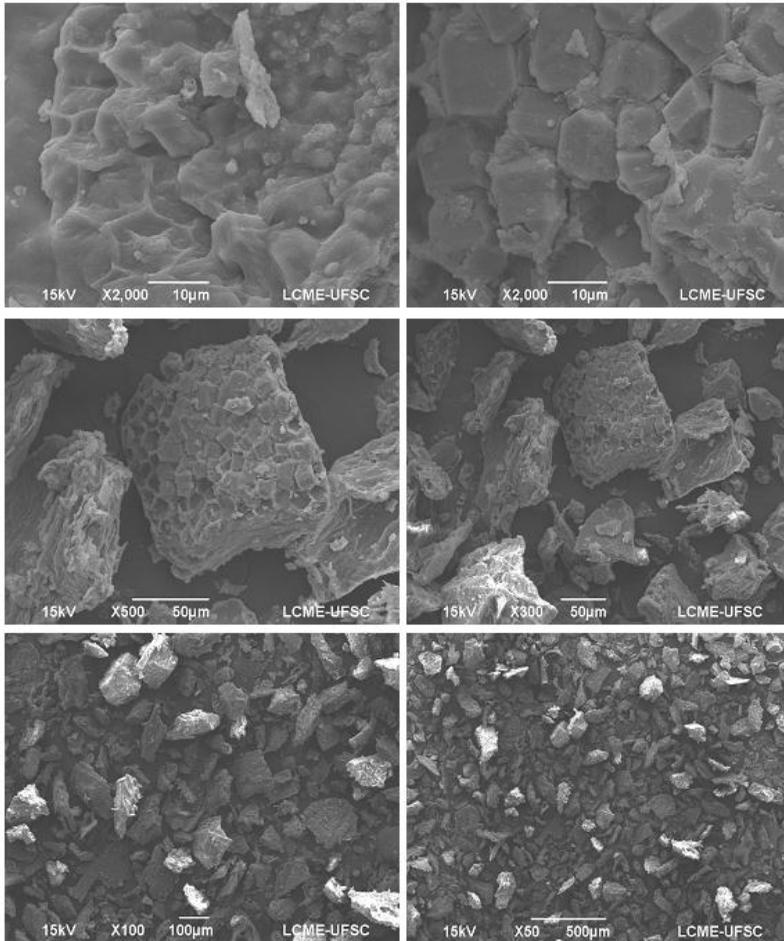
Pode-se concluir que, de acordo com os termogramas (Fig. 16a e b), os resultados encontrados indicam que as impurezas presentes na mucilagem liofilizada não afetam o comportamento térmico do material e que, portanto, dependendo do uso não há necessidade de purificação adicional ao extrato bruto obtido.

### 5.3.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As características morfológicas da mucilagem precipitada, da mucilagem reticulada com ácido cítrico e da mucilagem reticulada com epicloridrina foram avaliadas por microscopia eletrônica de varredura. As micrografias obtidas com ampliações de 50-2000 vezes estão apresentadas nas Figuras 17 a 19.

Observou-se na micrografia da mucilagem precipitada (Fig. 17) que a morfologia apresenta ausência de poros, estrutura densa, irregular e rugosa. Devido à padronização da granulometria, as partículas da amostra apresentam tamanho uniforme. Para as mucilagens reticuladas com ácido cítrico (Fig. 18) e com epicloridrina (Fig. 19) a mesma morfologia foi observada.

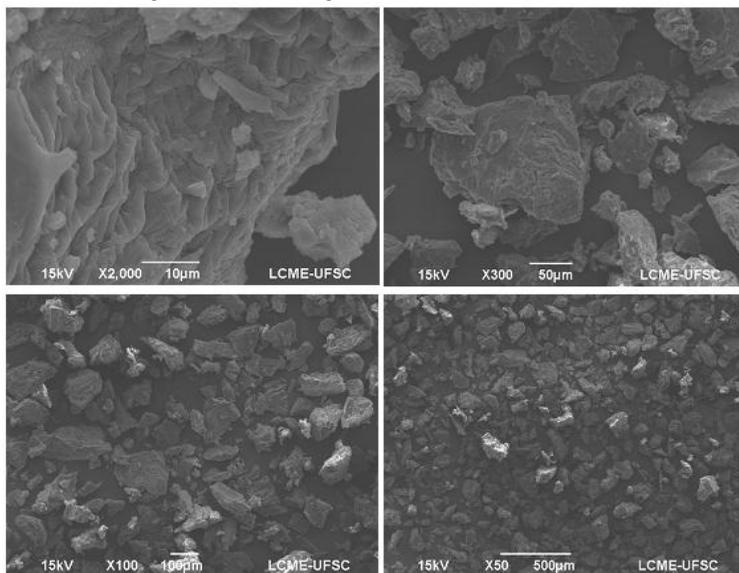
Figura 17 - Micrografias da mucilagem precipitada.



Fonte: desenvolvida pela autora.

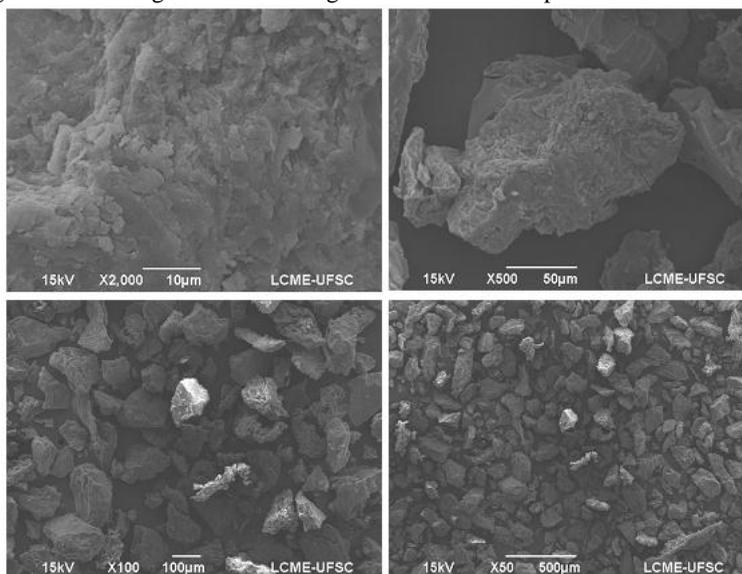
Como a mucilagem precipitada não apresentou porosidade a reticulação pouco influenciou neste aspecto. Mas uma desvantagem dos adsorventes (mucilagem reticulada com ácido cítrico e com epícloridrina, Fig. 18 e 19, respectivamente) é que não sendo porosos apresentam baixa área superficial e assim, adsorção limitada. A área superficial está diretamente relacionada com o tamanho e a quantidade dos poros, pois quanto menos poros o material tiver menor a quantidade de sítios ativos.

Figura 18 - Micrografias da mucilagem reticulada com ácido cítrico.



Fonte: desenvolvida pela autora.

Figura 19 - Micrografias da mucilagem reticulada com epícloridrina.



Fonte: desenvolvida pela autora.

A reticulação constitui-se em um método de transformação de polímeros que reduz a porosidade do material obtido e, assim, a permeabilidade à água e a difusão de possíveis substâncias aprisionadas nas redes poliméricas formadas (ORÉFICE, PEREIRA e MANSUR, 2006; CANEVAROLO, 2007).

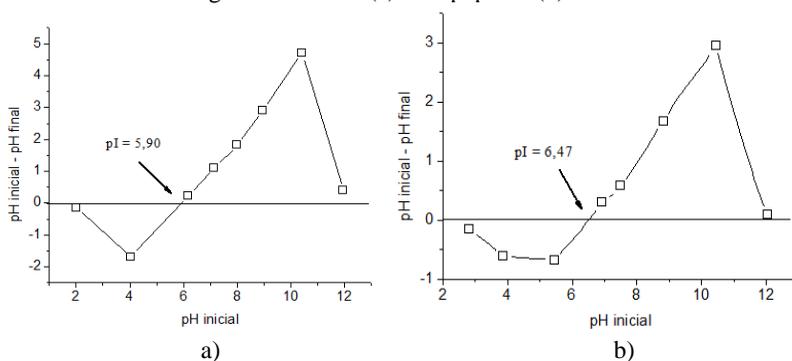
### 5.3.3 Caracterização textural

A análise da área superficial (BET) foi realizada e o resultado mostrou que a mucilagem reticulada com ácido cítrico não adsorveu o nitrogênio. Por isso não foi possível obter o gráfico da isotérma de adsorção. Sendo assim, não é porosa, o que pode ser evidenciado pela análise morfológica (Fig. 18).

### 5.3.4 Ponto isoeletrico (pI)

Na Figura 20a e b são mostrados os pontos experimentais obtidos para a mucilagem liofilizada e para a papaína com indicação do ponto isoeletrico (pI).

Figura 20 - Resultados experimentais obtidos na determinação do ponto isoeletrico da mucilagem liofilizada (a) e da papaína (b).



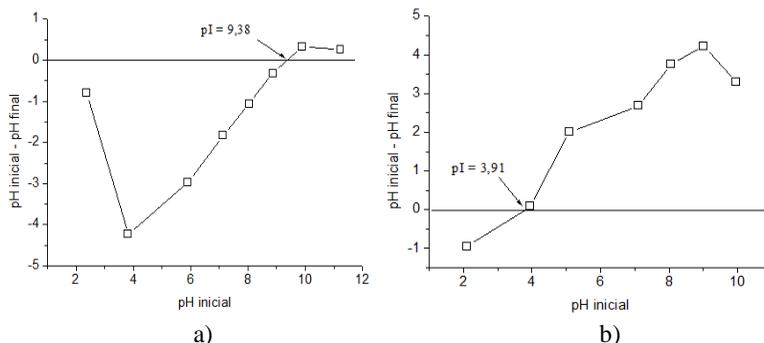
Fonte: desenvolvida pela autora.

A superfície da mucilagem liofilizada (Fig. 20a), em meio com pH abaixo do pI (5,90) e até pH 2,0, atrairá preferencialmente ânions por estar protonada apresentando carga líquida positiva. De maneira oposta, acima de pH 5,90 e até pH 12,0, a superfície da mucilagem liofilizada encontra-se desprotonada e negativamente carregada, exercendo atração preferencial sobre cátions. Para a solução de papaína

(Fig. 20b), comportamento semelhante foi observado em relação a carga superficial, visto que, o pI obtido foi de 6,47.

Na Figura 21a e b são mostrados os pontos experimentais utilizados na obtenção do ponto isoelétrico (pI) da mucilagem reticulada com epicloridrina e da mucilagem reticulada com ácido cítrico, respectivamente.

Figura 21 - Resultados experimentais obtidos na determinação do ponto isoelétrico (pI) da mucilagem reticulada com epicloridrina (a) e da mucilagem reticulada com ácido cítrico (b).



Fonte: desenvolvida pela autora.

Para a solução de mucilagem reticulada com epicloridrina (Fig. 21a), em pH abaixo de 9,38 e até pH 2,0 a superfície atrairá preferencialmente ânions por estar protonada e carregada positivamente. De maneira oposta, acima de pH 9,38 e até pH 12,0 a superfície da mucilagem encontra-se desprotonada e negativamente carregada, exercendo atração preferencial sobre cátions.

Já para a solução da mucilagem reticulada com ácido cítrico (Fig. 21b), em pH abaixo de 3,91 e até pH 2,0, a superfície atrairá preferencialmente ânions por estar protonada e carregada positivamente. De maneira oposta, acima de pH 3,91 a até pH 12,0, a superfície da mucilagem encontra-se desprotonada e negativamente carregada, exercendo atração preferencial sobre cátions.

Essa diferença no ponto isoelétrico das mucilagens reticuladas é devido ao método de reticulação utilizado, pois o método que utiliza epicloridrina requer meio reacional básico e o método que utiliza ácido cítrico requer meio reacional ácido.

Quando avalia-se o ponto isoelétrico da papaína e das mucilagens reticuladas, pode-se verificar que a adsorção ocorrerá de forma diferente

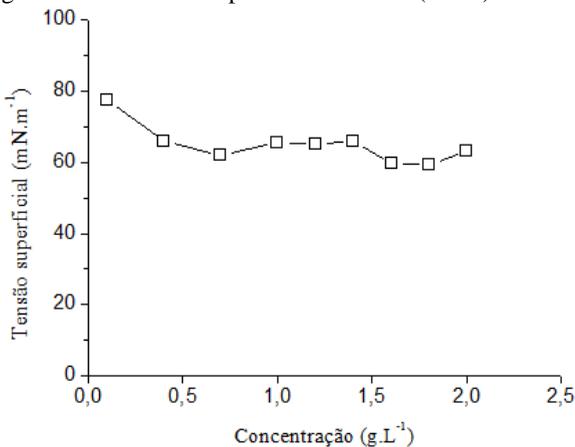
nas mucilagens reticuladas de acordo com as cargas da superfície das mesmas. Se considerarmos que a solução de papaína tem pH em torno de 7, que é próximo ao pI, com isso a papaína terá carga aproximadamente neutra. Então quando utiliza-se a mucilagem reticulada com epiclóridrina a adsorção vai ocorrer preferencialmente nos grupos carboxílicos (COOH) pois o pI é 9,38 e na mucilagem reticulada com ácido cítrico (pI = 3,91) nos grupos amina (NH<sub>2</sub>) da proteína, de acordo com a carga superficial.

Fujimoto *et al.* (2002) e Yu *et al.* (2009a) estudaram a adsorção de proteínas em diferentes superfícies e observaram que quanto mais próximo o pH do ponto isoelétrico (pI) da proteína, melhor a adsorção, pois nesta situação o adsorvente estará com alta densidade de carga, enquanto que o adsorbato apresentará carga total zero, o que diminui sua solubilidade e favorece a adsorção. Quanto mais afastado do pI mais produzirá repulsão elétrica e alterará a conformação da proteína, embora os resultados mostram o elevado volume de proteína adsorvida na superfície.

### 5.3.5 Tensão superficial

A curva com os dados experimentais obtidos na análise de tensão superficial da água com o uso da mucilagem liofilizada está mostrada na Figura 22.

Figura 22 - Curva com os dados da análise de tensão superficial da água com o uso da mucilagem liofilizada na temperatura de 293 K (20 °C).



Fonte: desenvolvida pela autora.

As concentrações de mucilagem liofilizada variaram de 0,1 a 2,0 g·L<sup>-1</sup> (0,01-0,2 %). A tensão superficial da água reduziu de 75 para 60 mN·m<sup>-1</sup> nas diferentes concentrações utilizadas. Observou-se que um aumento da concentração de mucilagem liofilizada provoca uma diminuição da tensão superficial das soluções (Fig. 22). Isso ocorre devido ao fato de que as soluções que possuem capacidade de reter água provocam um aumento da viscosidade da solução, e como consequência, diminuem a tensão superficial da água (MUÑOZ *et al.*, 2007). Essa característica se deve aos grupos hidrofílicos presentes na estrutura na mucilagem (GARTI, SLAVIN, e ASERIN, 1999).

Estudos mostram que a maioria das gomas promovem diminuição da tensão superficial limitada, atingindo normalmente valores entre 45-65 mN·m<sup>-1</sup> (SHOTTON e WIBBERLEY, 1959; PRUD'HOMME e LONG, 1983; DEA e MADDEN, 1986). A goma tragacante reduz a tensão superficial para 53 mN·m<sup>-1</sup> em concentrações de até 0,25 % (MOREIRA *et al.*, 2012). A goma extraída de sementes de *Acacia tortuosa* na concentração de 0,5 % (m/v) reduziu para 42,9 mN·m<sup>-1</sup> (MUÑOZ *et al.*, 2007), a goma arábica (0,5 %) para 46,9 mN·m<sup>-1</sup>, a goma guar (0,5 %) para 55,2 mN·m<sup>-1</sup>, a pectina (0,5 %) para 53,6 mN·m<sup>-1</sup> (HUANG, KAKUDA e CUI, 2001). A pectina modificada enzimaticamente na concentração de 0,5 % reduz para 55 mN·m<sup>-1</sup> (LUTZ *et al.*, 2009). A goma extraída da *Portulaca oleracea* L. na concentração de 0,6 % para 47 mN m<sup>-1</sup> (GARTI, SLAVIN e ASERIN, 1999).

A capacidade de alterar as propriedades superficiais de um líquido, no presente caso, reduzir a tensão superficial, é característica de um tensoativo. Os tensoativos, também conhecidos como surfactantes, possuem diversas aplicações industriais, tais como detergência, emulsificação, lubrificação e capacidade espumante. A maior utilização dos surfactantes se concentra na indústria de produtos de limpeza (sabões e detergentes), na indústria de cosméticos e produtos de higiene (NITSCHKE e PASTORE, 2002).

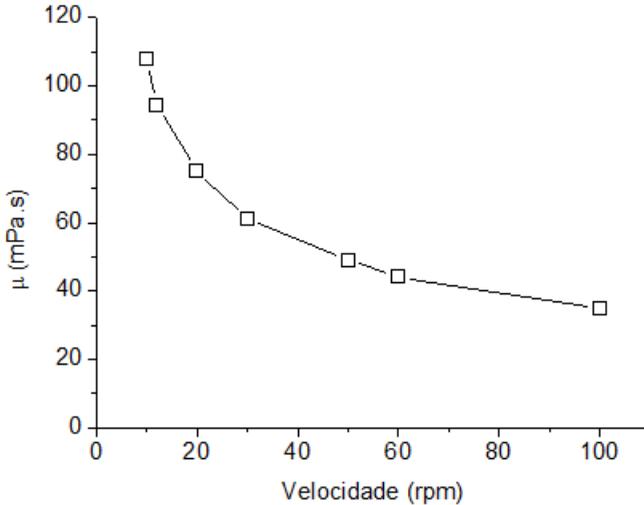
### 5.3.6 Reologia

Os dados obtidos na avaliação do comportamento reológico da solução de mucilagem precipitada estão apresentados na Figura 23.

Quanto maior a tensão aplicada, maior será a ordenação e, conseqüentemente, a viscosidade aparente será menor (Fig. 23). Sendo assim, identifica-se o comportamento não-newtoniano (pseudoplástico)

(HOLDSWORTH, 1971), ou seja, a viscosidade varia conforme o grau de deformação aplicado. Mesmo comportamento foi observado para a goma xantana (GARCÍA-OCHOA *et al.*, 2000), goma do cajueiro e goma arábica (MOTHÉ e RAO, 1999).

Figura 23 - Dados da avaliação do comportamento do fluido.



Fonte: desenvolvida pela autora.

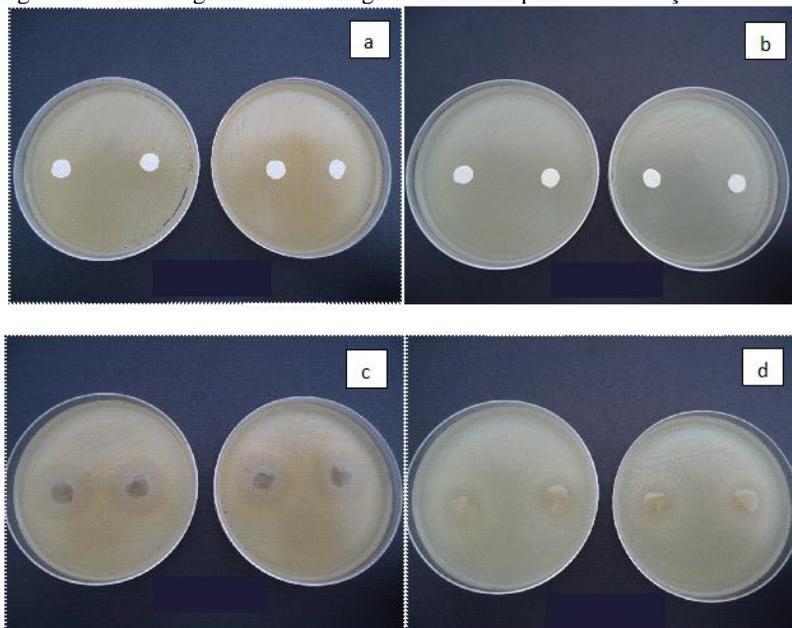
Várias substâncias como emulsões, suspensões ou dispersões de alta importância técnica e comercial são líquidos pseudoplásticos. Algumas situações em que essa característica é fundamental são: nos processos de mistura ou na injeção de polímeros fundidos no molde; no bombeamento de produtos farmacêuticos; na pulverização de tintas em forma spray ou vaporizadas em uma parede e na expulsão de pastas de dente ou cremes faciais de suas embalagens (SCHRAMM, 2006).

#### 5.4 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Na Figura 24 são mostradas as imagens obtidas da análise antimicrobiana da mucilagem liofilizada pura e em solução a 5 %, pode-se observar que a mucilagem liofilizada em solução aquosa a 5 % ( $m \cdot v^{-1}$ ) não possui efeito antimicrobiano para os microrganismos *Staphylococcus aureus* (Gram-positiva) e *Escherichia coli* (Gram-negativa) (Fig. 24a e b), uma vez que não se vê a formação de halos. Por

outro lado, a mucilagem liofilizada pura mostra efeito antimicrobiano mais acentuado frente a *Staphylococcus aureus* do que para *Escherichia coli*, o que pode ser visualizado no tamanho dos halos formados (Fig. 24c e d).

Figura 24 - Antibiograma da mucilagem liofilizada pura e em solução a 5 %.



Mucilagem liofilizada em solução aquosa a 5 % (a) Gram-positiva e (b) Gram-negativa.

Mucilagem liofilizada pura (c) Gram-positiva e (d) Gram-negativa.

Fonte: desenvolvida pela autora.

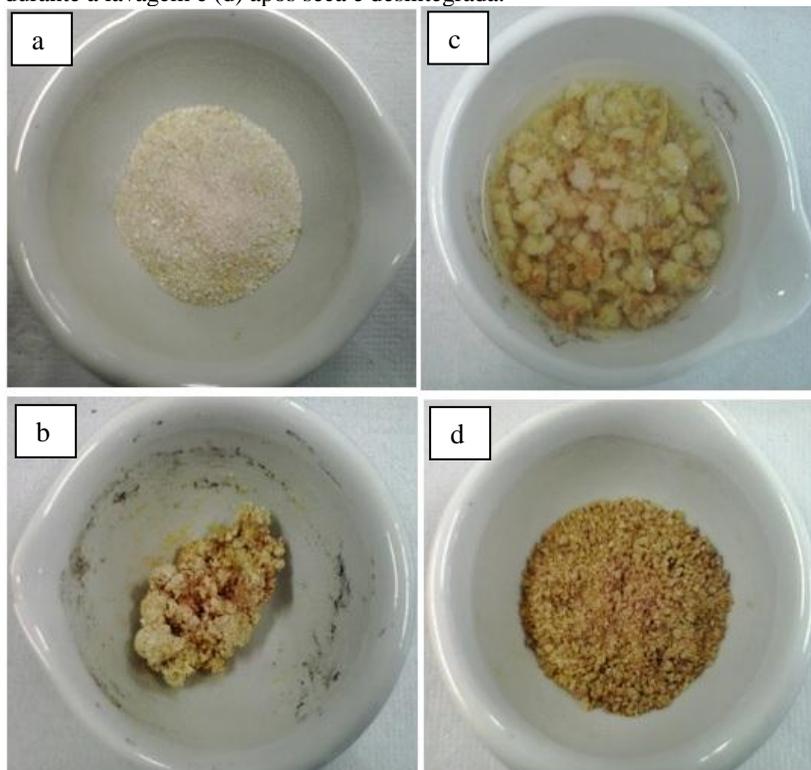
O diâmetro da zona de inibição foi medido em milímetros e a inibição pode ser classificada em forte (>18 mm), moderada (14-18 mm) ou fraca (10-13,9 mm) (CAROVIĆ-STANKO *et al.*, 2010). A mucilagem liofilizada mostrou um efeito antimicrobiano fraco, com halo em torno de 11 mm para Gram-positiva e 5 mm para a Gram-negativa. Sendo levemente ativa, a mucilagem liofilizada tem ação fraca em relação ao *Staphylococcus aureus*, microrganismo patogênico.

A atividade antimicrobiana leve (Fig. 24) assim como a atividade antioxidante pode estar relacionada a contribuição dos compostos fenólicos, de acordo com os resultados observados (Tabela 8).

## 5.5 AVALIAÇÃO DO PROCESSO DE ADSORÇÃO

Na Figura 25 são mostradas as fases que envolvem a reticulação, ou seja, a aparência da mucilagem até a obtenção da mucilagem reticulada com ácido cítrico para uso como adsorvente.

Figura 25 - Aparência da amostra durante as fases da reticulação: (a) mucilagem precipitada e seca; (b) mucilagem após a reticulação com ácido cítrico; (c) durante a lavagem e (d) após seca e desintegrada.



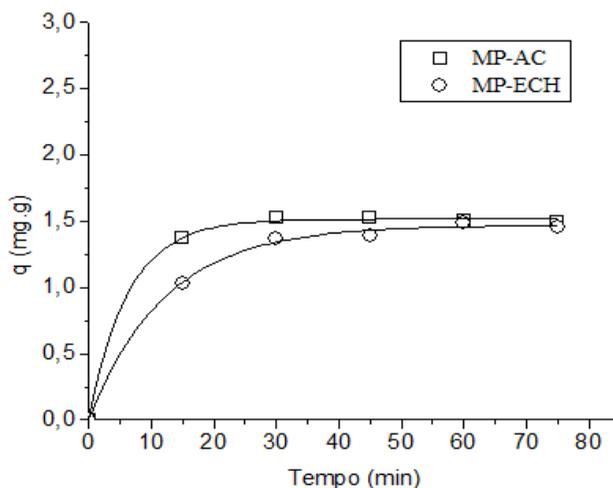
Fonte: desenvolvida pela autora.

Como pode ser observado (Fig. 25c) a mucilagem reticulada com ácido cítrico quando em contato com a água ela absorve e incha, mesmo comportamento é observado para a mucilagem precipitada.

### 5.5.1 Cinéticas de adsorção

O tempo necessário para o sistema atingir o equilíbrio foi determinado pelo estudo da cinética de adsorção. Os dados obtidos nos testes preliminares utilizando a mucilagem reticulada como adsorvente estão na Figura 26 e Tabela 13. Os valores da quantidade adsorvida ( $q$ ) foram obtidos pela medida da absorbância em 280 nm para cada tempo e a solução de papaína, para os dois testes, apresentou pH em torno de 7,0.

Figura 26 - Cinética de adsorção da papaína.



Fonte: desenvolvida pela autora.

Nestes ensaios, quando se avalia a adsorção, observa-se uma velocidade de adsorção maior com a utilização da mucilagem reticulada com ácido cítrico do que com a mucilagem reticulada com epicloridrina. O tempo de equilíbrio alcançado para a mucilagem reticulada com ácido cítrico foi de 30 min, enquanto que para a mucilagem reticulada com epicloridrina foi de 60 min (Fig. 26 e Tabela 13). No entanto, no tempo final da adsorção, valores próximos foram obtidos para os dois adsorventes avaliados.

Tabela 13 - Dados preliminares obtidos na adsorção de papaína utilizando as mucilagens reticuladas com ácido cítrico (MP-AC) e com epicloridrina (MP-ECH) como adsorventes.

Tempo (min)	MP-ECH			MP-AC		
	Concentração (mg·mL <sup>-1</sup> )	Quantidade adsorvida (mg·g <sup>-1</sup> ) (%)		Concentração (mg·mL <sup>-1</sup> )	Quantidade adsorvida (mg·g <sup>-1</sup> ) (%)	
0	4,0	0	0	4,0	0	0
15	1,54	1,03	38,58	2,06	1,37	51,31
30	2,06	1,37	51,31	2,29	1,53	57,30
45	2,08	1,39	52,06	2,3	1,53	57,31
60	2,23	1,49	55,80	2,26	1,51	56,55
75	2,19	1,46	54,68	2,24	1,49	55,80

Fonte: desenvolvida pela autora.

Com isso, foi possível observar que a mucilagem reticulada com epicloridrina pode ser utilizada em processos de separação de proteínas, mas a mucilagem reticulada com ácido cítrico, além de apresentar um maior rendimento, em torno de 50 % a mais, apresentou uma cinética de adsorção mais rápida, se tornando, assim, um processo mais promissor.

Outro fator importante a ser considerado é a substituição da epicloridrina por ácido cítrico, o qual é um agente reticulante atóxico. O processo mostrou ser viável e satisfatório, não interferindo no processo de reticulação nem na adsorção.

A modelagem cinética foi realizada para avaliar o mecanismo cinético que controla o processo de adsorção da papaína. Foram testados os modelos de pseudo-primeira ordem e pseudo-segunda ordem, e os parâmetros cinéticos obtidos para cada modelo para a mucilagem reticulada com ácido cítrico (MP-AC) e a mucilagem reticulada com epicloridrina (MP-ECH), estão apresentados na Tabela 14.

Tabela 14 - Parâmetros cinéticos para a adsorção de papaína.

Adsorvente	Pseudo-primeira ordem			Pseudo-segunda ordem		
	K <sub>1</sub> (min <sup>-1</sup> )	q <sub>1</sub> (mg·g <sup>-1</sup> )	R	K <sub>2</sub> (g·mg <sup>-1</sup> ·min <sup>-1</sup> )	q <sub>2</sub> (mg·g <sup>-1</sup> )	R
MP-AC	0,01	0,04	-0,2915	-1,42	1,52	0,8876
MP-ECH	0,04	0,64	0,8924	0,59	1,63	0,9943

Fonte: desenvolvida pela autora.

O modelo que melhor correlacionou os dados cinéticos foi o de pseudo-segunda ordem ( $R = 0,8876$  e  $0,9943$ ). Além disso, observou-se na Tabela 14 que este modelo forneceu um valor de quantidade adsorvida calculada de  $1,52 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$  para a mucilagem reticulada com ácido cítrico e  $1,63 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$  para a mucilagem reticulada com epícloridrina, os quais mostraram boa concordância com os valores experimentais ( $1,53 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$  e  $1,49 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$  no tempo de equilíbrio, 60 e 30 min respectivamente, Tabela 13).

A quantidade de papaína adsorvida ( $2,67 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ) foi inferior à adsorvida para outros materiais citados na literatura, isto deve ao fato de que a papaína mostrou ser pouco solúvel em meio aquoso [ $0,4 \% (\text{m}\cdot\text{v}^{-1})$ ] não se conseguindo com isso concentração inicial maior.

Benhura e Mavhudzi (1995) utilizaram a mucilagem de ruredzo (*Dicerocaryum zanguebarium*) reticulada com epícloridrina para purificar a poligalacturonase extraída do tomate. Com a mudança química do biomaterial durante a reticulação obtiveram uma capacidade de adsorção de  $5,2 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ .

Teixeira-Sá *et al.* (2009) purificaram a lectina utilizando polissacarídeos reticulados com epícloridrina, ambos extraídos da semente de *Mucuna sloanei*. Com isso, a capacidade de adsorção da lectina foi de  $5,4 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ .

Testes cinéticos de recuperação da papaína também foram realizados. A papaína desorveu totalmente quando a mucilagem reticulada com ácido cítrico foi lavada com a solução tampão acetato  $0,1 \text{ M}$  pH 2,6 (Tabela 15), sugerindo, assim, que o adsorvente pode ser recuperado e reutilizado em um novo ciclo e a papaína, quando a mesma estiver em uma matriz heterogênea pode facilmente ser adsorvida, desorvida e purificada.

Tabela 15 - Teste de recuperação da papaína.

Tempo (min)	Quantidade adsorvida ( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ )	Dessorção (%)
0	1,87	0
5	traços	99,99
10	traços	99,99

Fonte: desenvolvida pela autora.

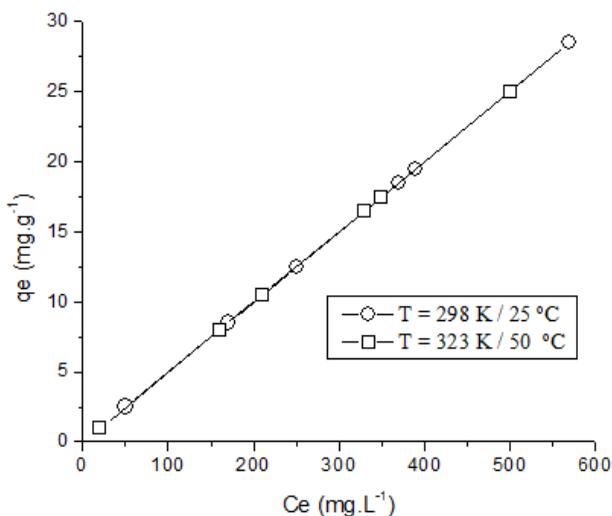
A literatura reporta que a dessorção de albumina de soro bovino (BSA) foi investigada. Boonsongrit *et al.* (2008) estudaram a dessorção com água destilada, em solução tampão com pH fisiológico (pH 7,4) e em solução tampão fosfato (pH 7,4) com diferentes concentrações de

fosfato. Em água destilada a dessorção foi baixíssima; em solução tampão pH fisiológico o BSA foi dessorvido rapidamente; na solução tampão fosfato também ocorreu uma rápida dessorção e a quantidade de BSA dessorvida foi proporcional a concentração de fosfato.

### 5.5.2 Isotermas de adsorção

As isotermas foram realizadas e os pontos experimentais obtidos em 298 e 323 K (25 e 50 °C) estão na Figura 27.

Figura 27 - Isotermas experimentais de adsorção da papaína.



Fonte: desenvolvida pela autora.

As isotermas apresentaram comportamento linear para a faixa de concentração estudada (Fig. 27), classificanda como uma isoterma do tipo C (“constant partition”), que possui um início linear indicando que o número de sítios ativos é constante (GILES *et al.*, 1960).

Os modelos de Langmuir, Freundlich e Temkin foram empregados para interpretar os dados experimentais. A partir do ajuste linear das curvas obtidas foi verificado que o modelo de Freundlich na sua forma linear logarítmica ajustada, com o uso do software ORIGIN<sup>®</sup>, foi que melhor se adequou ( $R = 1,0000$  e  $0,99989$ ). Na Tabela 16 são mostrados os parâmetros de ajuste para o modelo de Freundlich utilizado para descrever as isotermas.

Tabela 16 - Parâmetros de ajuste do modelo de Freundlich.

Adsorvente	Temperatura (K / °C)	$K_F$ ( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ )	$n_F$	R
MP-AC	298 / 25	0,05	1,01	1,00000
	323 / 50	0,05	1,0	0,99989

Fonte: desenvolvida pela autora.

O modelo é favorável quando  $1 < n < 10$  (NAMANE *et al.*, 2005). Se  $n$  for igual a 1, tem-se uma isoterma do tipo C (HINZ, 2001). Ao obedecer ao modelo de Freundlich, a adsorção se dá pela formação de multicamada (FREUNDLICH, 1906). O processo de adsorção é influenciado pela heterogeneidade da superfície do adsorvente, ou seja, existem sítios com energias adsorptivas diferentes (RUTHVEN, 1984; COONEY, 1999).

O modelo de Freundlich é comumente utilizado para representação empírica da adsorção de compostos orgânicos em superfícies heterogêneas (BORISOVER, REDDY e GRABER, 2001; FERREIRA *et al.*, 2002; YU *et al.*, 2009b).

### 5.5.3 Planejamento experimental

Os testes de adsorção foram realizados somente com a mucilagem reticulada com ácido cítrico, tendo em vista a adsorção equivalente e à menor toxicidade do processo. Na Tabela 17 são mostrados os resultados de adsorção de papaína (q), obtidos para o planejamento experimental aplicado.

Tabela 17 - Concentração de papaína adsorvida pela mucilagem reticulada com ácido cítrico nas diferentes condições de operação.

Ensaio	Temperatura (K / °C)	pH	Concentração de papaína [% ( $\text{m}\cdot\text{v}^{-1}$ )]	q ( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ )
1	311 / 38(-1)	5,0(-1)	0,2(-1)	1,13
2	335 / 62(1)	5,0(-1)	0,2(-1)	0,95
3	311 / 38(-1)	8,0(1)	0,2(-1)	0,56
4	335 / 62(1)	8,0(1)	0,2(-1)	0,54
5	311 / 38(-1)	5,0(-1)	0,4(1)	2,18
6	335 / 62(1)	5,0(-1)	0,4(1)	1,74
7	311 / 38(-1)	8,0(1)	0,4(1)	0,59
8	335 / 62(1)	8,0(1)	0,4(1)	0,46
9	323 / 50(0)	6,5(0)	0,3(0)	2,21
10	323 / 50(0)	6,5(0)	0,3(0)	2,36
11	323 / 50(0)	6,5(0)	0,3(0)	2,26

Fonte: desenvolvida pela autora.

Para a análise dos resultados foi utilizado um modelo de segundo grau. A análise de variância para a quantidade adsorvida, a 5 % de significância, está mostrada na Tabela 18.

Tabela 18 - Análise de variância (ANOVA).

	<b>Soma</b> <b>Quadrática</b>	<b>Graus de</b> <b>Liberdade</b>	<b>Média</b> <b>Quadrática</b>	<b>F</b> <b>calc</b>	<b>F</b> <b>tab</b>
Regressão	2,818675	6	0,469779	0,674385	2,85
Resíduos	9,752452	14	0,696604		
Falta ajuste	3,466889	4	0,866722	1,378909	3,48
Erro puro	6,285564	10	0,628556		
Total	6,285564				

Fonte: desenvolvida pela autora.

Tanto o modelo de regressão gerado como a falta de ajuste não foram significativos ( $p \leq 0,05$ ) pois o  $F_{\text{calculado}}$  foi menor que o  $F_{\text{tabelado}}$ . Sendo assim o modelo não é considerado válido para fins preditivos, pois as variáveis não foram significativas em relação a concentração de papaína adsorvida (CALADO e MONTGOMERY, 2003).

Os resultados obtidos no planejamento de experimentos e a análise da influência das variáveis são aplicados apenas dentro do intervalo de estudo. Nenhuma das variáveis apresentou efeito significativo. Todos os fatores mostram valores do nível  $p < 0,05$ . Estes foram considerados no modelo, o qual é dado pela Equação (21):

$$Y = 1,36 - 0,097X_1 - 0,48X_2 + 0,22X_3 + 0,059X_1X_2 - 0,046X_2X_3 - 0,24X_2X_3, \quad (21)$$

onde Y é a quantidade de papaína adsorvida,  $X_1$  é a temperatura,  $X_2$  é o pH,  $X_3$  é a concentração de papaína; com coeficiente de correlação de  $R = 0,44844$ .

Como o modelo linear não foi adequado para representar os dados experimentais, utilizou-se de um modelo de segundo grau considerando a curvatura. A análise de variância para a concentração adsorvida, a 5 % de significância, está mostrada na Tabela 19.

Tabela 19 - Análise de variância (ANOVA) considerando a curvatura.

	<b>Soma</b>	<b>Graus de</b>	<b>Média</b>	<b>F</b>	<b>F</b>
	<b>Quadrática</b>	<b>Liberdade</b>	<b>Quadrática</b>	<b>calc</b>	<b>tab</b>
Curvatura	3,452409	1	3,452409		
Regressão	6,271084	7	0,895869	185,6189	8,89
Resíduos	0,014479	3	0,004826		
Falta ajuste	0,002812	1	0,002812	0,482143	18,51
Erro puro	0,011667	2	0,005833		
Total	6,285564				

R = 0,9977

Fonte: desenvolvida pela autora.

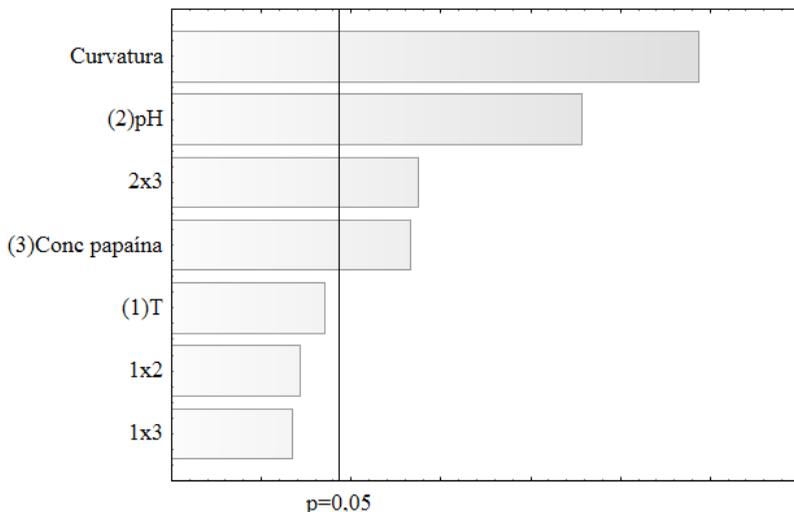
O modelo de regressão com curvatura gerado foi significativo ( $p \leq 0,05$ ): encontrou-se um valor de  $F_{\text{calculado}} = 185,6189$  muito maior que o  $F_{\text{tabelado}} = 8,89$ , e a falta de ajuste não foi significativa ( $F_{\text{calculado}} = 0,482143 < F_{\text{tabelado}} = 18,51$ ). Sendo assim o modelo é considerado adequado para fins preditivos, mostrando que as variáveis consideradas para descrição do fenômeno influenciam significativamente na concentração de papaína adsorvida (CALADO e MONTGOMERY, 2003).

A influência das variáveis é mostrada no Diagrama de Pareto (Figura 28). Os principais efeitos encontrados referem-se ao pH e à concentração de papaína, enquanto que a temperatura não foi significativa. Significativa, também, foi a interação de segunda ordem entre o pH e a concentração de papaína. Os fatores significativos apresentam valores do nível  $p \leq 0,05$ . Estes foram considerados no modelo reduzido considerando a curvatura, que é dado pela Equação (22):

$$Y = 1,019 - 0,481X_2 + 0,224X_3 - 0,236X_2X_3, \quad (22)$$

com coeficiente de determinação encontrado foi de  $R = 0,9977$  e a curvatura encontrada de 1,258.

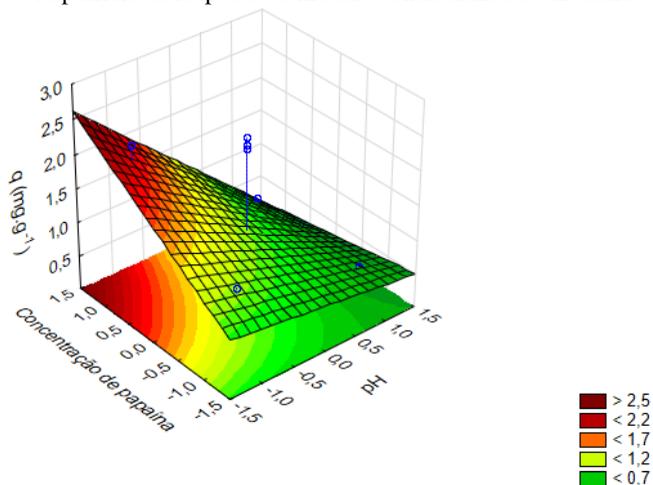
Figura 28 - Diagrama de Pareto considerando a curvatura.



Fonte: desenvolvida pela autora.

Na Figura 29 é mostrada a superfície de resposta obtida para a quantidade de papaína adsorvida,  $q$ , em função dos fatores pH e concentração inicial de papaína, onde é possível a visualização da curvatura.

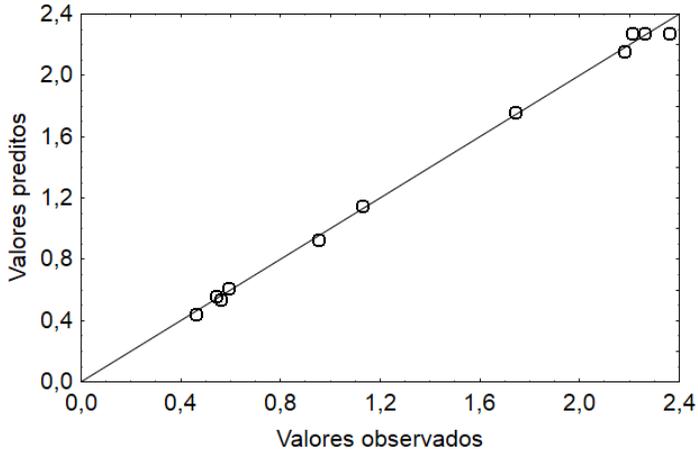
Figura 29 - Superfície de resposta do modelo considerando a curvatura.



Fonte: desenvolvida pela autora.

A concordância dos valores preditos e dos observados para o modelo que considera a curvatura nos pontos centrais estão apresentados na Figura 30.

Figura 30 - Valores preditos versus observados.



Fonte: desenvolvida pela autora.

A curvatura atua no ajuste do modelo apenas sobre o ponto central, como pode ser visto na Tabela 20.

Tabela 20 - Dados experimentais e preditos pelo modelo considerando ou não a curvatura.

Ensaio	Dados experimentais	Modelo	
		Sem curvatura	Com curvatura
1	1,13	<b>1,15</b>	2,85
2	0,95	<b>0,93</b>	2,78
3	0,56	<b>0,54</b>	1,80
4	0,54	<b>0,56</b>	1,72
5	2,18	<b>2,16</b>	2,83
6	1,74	<b>1,76</b>	2,75
7	0,59	<b>0,61</b>	1,77
8	0,46	<b>0,44</b>	1,70
9	2,21	1,02	<b>2,28</b>
10	2,36	1,02	<b>2,28</b>
11	2,26	1,02	<b>2,28</b>

Fonte: desenvolvida pela autora.

A curvatura serve para ajustar o modelo às respostas que estão muito distantes do ponto central. Ao ser aplicada a todos os níveis do modelo, promove uma falta de ajuste nos demais pontos que não o  $(0,0)$ . Por outro lado, o modelo simples ajusta-se muito bem aos pontos  $(-1,1)$ , sem curvatura, como pode ser visto na Tabela 20.

A significância curvatura reflete a importância da aplicação de um modelo com termos quadráticos, o que, teoricamente, geraria uma superfície passível de ser otimizada. No entanto, a falta de material para elaboração de um novo planejamento impediu a ampliação daquele apresentado aqui.

## 6. CONCLUSÃO

Com base na caracterização realizada e nos testes de adsorção pode-se concluir que a mucilagem de jaracatiá [*Carica quercifolia* (A. St.-Hil) Hieron] pode ser utilizada como adsorvente de papaína e também:

- A mucilagem do jaracatiá mostrou ser composta por heteropolímeros e apresenta em sua constituição uma mistura monossacarídica de Rha, Ara, Xyl, Man, Gal, Glc e GalA. O polissacarídeo majoritário é uma arabinogalactana do tipo I.
- É um material pouco conhecido e, devido à multiplicidade de grupos funcionais, supõe-se que seja suficientemente reativo e que pode, portanto, ligar-se a diversos componentes como fenóis e proteínas.
- Sua resistência térmica permite que seja facilmente manipulado até temperaturas de 250 °C sem modificações químicas.
- Embora tenha atividade antioxidante e antimicrobiana, as mesmas não são notáveis a ponto deste material poder ser considerado como ativo nestas áreas.
- Seu melhor aproveitamento seria na área química, com associação a outros compostos para obtenção de novos materiais como, por exemplo, na adsorção para purificação de proteínas ou na obtenção de filmes.
- O ácido cítrico mostrou ser um bom agente reticulante para este componente e a MP reticulada com ácido cítrico, além de apresentar um rendimento maior, em torno de 50 %, apresentou uma cinética de adsorção mais rápida, se tornando, assim, um processo mais promissor.
- Através da determinação do ponto isoelétrico foi possível observar que a utilização dos métodos de reticulação aqui empregados levaram a materiais com características diferentes, promovendo adsorção através de grupos funcionais distintos da proteína, variando de acordo com o reticulante empregado. No entanto, a quantidade adsorvida foi semelhante devido ao equilíbrio dos grupos funcionais ácidos e básicos da proteína utilizada.



## **7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS**

- testar a extração a quente da mucilagem;
- testar a substituição da filtração com malha de poliéster pelo uso da ultra centrífuga;
- testar a precipitação com outros solventes;
- avançar nos estudos sobre a composição química da mucilagem;
- incluir arabinogalactanas e pectinas na reticulação;
- obter filmes comestíveis;
- retirar o catalisador da reticulação, pois é o único componente tóxico que pode deixar resíduo;
- estudar as variáveis que podem influenciar no processo de reticulação para melhorar o rendimento, fazer pontos axiais do planejamento
- verificar a reprodutibilidade dos resultados de adsorção;
- testar outras proteínas;
- avaliar se a proteína mantém as suas características após a dessorção.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABU-ILAIWI, F. A.; AHMAD, M. B.; IBRAHIM, N. A.; RAHMAN, M. Z. A.; DAHLAN, K. Z. M.; YUNUS, W. M. Z. W. Optimized conditions for the grafting reaction of poly (methyl crylate) onto rubberwood fiber. **Polymer International**, v. 53, p. 386-391, 2004.

AHAD, H.; BINDU, V.; PADMAJA, B.; RAMYASREE, P.; SRAVANTHI, M.; SREERAMULU, J. Isolation and physicochemical characterization of *Ficus reticulata* fruit mucilage. **International Journal of Green Pharmacy**, v. 5, p. 131-134, 2011.

AHUJA, M.; KUMAR, A.; YADAV, P.; SINGH, K. *Mimosa pudica* seed mucilage: Isolation; characterization and evaluation as tablet disintegrant and binder. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 57, p. 105– 110, 2013.

ALBERTS, B.; BRAY, D.; HOPKIN, K.; JOHNSON, A.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WALTER, P. **Fundamentos de Biologia Celular**, 2º edição, Porto Alegre: Artmed, 2006, 864p.

ALVES, R. C. **Caracterização de gomas extraídas de seis tipos de sementes de leguminosas**. Dissertação (mestrado em Engenharia Química) – Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis/SC, 2013

AMUDA, O. S.; GIWA, A. A.; BELLO, I. A. Removal of heavy metal from industrial wastewater using modified activated coconut shell carbono. **Biochemical Engineering Journal**, v. 36, p. 174-181, 2007.

ANIA, C. O.; PARRA, J. B.; PIS, J. J. Effect of texture and surface chemistry on adsorptive capacities of activated carbons for phenolic compounds removal. **Fuel Processing Technology**, 77-78, p. 337-343, 2002.

AOAC – Association of Official Agricultural Chemists. **Official methods of the Association of the Agricultural Chemists**. 16. ed. Washington, DC, v. 2, Fibra alimentar – nº 991.43, 1995.

- ASENJO, J. A.; PATRICK, I. Large-scale protein purification. In: HARRIS, E.; ANGALS, S. **Protein Purification Application: A practical approach**, Oxford: IRL Press, 1990.
- ASPINALL, G. O. **The Polysaccharides** - Vol. 1, Academic Press, New York, 1982, 330 p.
- AVIGAD, G.; DEY, P. M. Carbohydrate metabolism: storage carbohydrates. In: DEY, P. M.; HARBORNE, J. B. **Plant Biochemistry**. Bristol: Academic Press, 1997. p. 143.
- BARBOSA, L. C. De A. **Espectroscopia no Infravermelho na caracterização de compostos orgânicos**. Editora UFV, Viçosa, 2007, 189 p.
- BARFIELD, M.; CHAKRABARTI, B. Long-range proton spin-spin coupling. **Chemical Reviews**, v. 69, p. 757-778, 1969.
- BARI, H. A. A.; LETCHMANAN, K.; YUNUS, R. M. Drag reduction characteristics using *Aloe vera* natural mucilage: na experimental study. **Journal of Applied Sciences**, 11, p. 1039-1043, 2011.
- BARONE, G.; CORSARO, M. M.; CASTRO, C. DE; LANZETTA, R.; MANGONI, L.; PARRILLI, M. Structural investigation of *Ceratozamia spinosa* mucilage. **Carbohydrate Research**, v. 260, p. 259-270, 1994.
- BASU, S.; BANDYOPADHYAY, A. K. Characterization of mucoadhesive nasal gels containing midazolam hydrochloride prepared from *Linum usitatissimum* L. mucilage. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 47, p. 817-823, 2011.
- BAVEJA, S. K.; RAO, K. V. R.; ARORA, J. Examination of natural gums and mucilages as sustaining materials in tablet dosage forms. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 50, p. 89-92, 1988.
- BECK, N.V.; MEECH, S.E.; NORMAN, P.R.; PEARS, L.A. Characterization of surface oxides on carbon and their influence on dynamic adsorption. **Carbon**, v. 40, p. 531-540, 2002.

BENHURA, M. A. N.; MARUME, M. The mucilaginous polysaccharide material isolated from *ruredzo* (*Dicerocaryum zanguebarium*). **Food Chemistry**, v. 46, p. 7-11, 1993.

BENHURA, M. A. N.; MAVHUDZI, I. Use of crosslinked mucilage prepared from *ruredzo* (*Dicerocaryum zanguebarium*) in the purification of polygalacturonase extracted from tomato. **Food Chemistry**, v. 56, p. 433-437, 1995.

BENHURA, M. A. N.; MAVHUDZI-NYAMBAYO, I. Depolymerisation of mucilage isolated from *ruredzo* (*Dicerocaryum zanguebarium*) by ascorbic acid in the presence of catalysts. **Carbohydrate Polymers**, v. 38, p. 371-373, 1999.

BHARDWAJ, T. R.; KANWAR, M.; LAL, R.; GUPTA, A. Natural gums and modified natural gums as sustained-release carriers. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 26, p. 1025-1038, 2000.

BLUMENKRANTZ, N.; ASBOE-HANSEN, G. New Method for Quantitative Determination of Uranic Acids. **Analytical Biochemistry**, v. 54, p. 484-489, 1973.

BOBAN, P. T.; NAMBISAN, B.; SUDHAKARAN, P. R. Hypolipidaemic effect of chemically different mucilages in rats: a comparative study. **British Journal of Nutrition**, v. 96, p.1021-1029, 2006.

BOEHM, H. P. Some aspect of the surface chemistry of carbon blacks and other carbons. **Carbon**, v. 32, p. 759-769, 1994.

BOEHM, H. P. Surface oxides on carbon and their analysis: a critical assessment. **Carbon**, v. 40, p. 145-149, 2002.

BOONSONGRIT, Y.; ABE, H.; SATO, K.; NAITO, M.; YOSHIMURA, M.; ICHIKAWA, H.; FUKUMORI, Y. Controlled release of bovine serum albumin from hydroxyapatite microspheres for protein delivery system. **Materials Science and Engineering B**, v. 148, p. 162-165, 2008.

BORISOVER, M.; REDDY, M.; GRABER, E. R. Solvation effect on organic compound interactions in soil organic matter. **Environmental Science and Technology**, v. 35, p. 2518–2524, 2001.

BOUHEDJA, W.; SOCKALINGUM, G. D.; PINA, P.; ALLOUCH, P.; BLOY, C.; LABIA, R.; MILLOT, J. M.; MANFAIT, M. ATR-FTIR spectroscopic investigation of *E. coli* transconjugants  $\beta$ -lactams-resistance phenotype. **Federation of European Biochemical Societies Letters**, v. 412, p. 39-42, 1997.

BOYER, C.; HUANG, X.; WHITTAKER, M. R.; BULMUSAND, V.; DAVIS, T. P. An overview of protein–polymer particles. **Soft Matter**, v. 7, p. 1599-1614, 2011.

BRADLEY, M. Chemistry at the polymer–particle interface for the design of innovative materials. **Soft Matter**, v. 8, p. 1268-1274, 2012.

BRANCO, N. B. C. **Mucilagem do cladódio de *Cereus hildmaniannus* K. Schum: caracterização física, química e reológica**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis/SC, 2011.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie**, v. 28, p. 25-30, 1995.

BRUNAUER, S.; EMMETT, P.H. e TELLER, E. Adsorption of gases in multimolecular layers. **Journal of American Chemical Society**, v. 60, p. 309-319, 1938.

BRUNETON, J. **Pharmacognosie, phytochimie, plantes medicinales**. 2ª ed.; Technique et Documentation, Lavoisier, Paris, 1993.

CAI, W.; GU, X.; TANG, J. Extraction, purification, and characterization of the polysaccharides from *Opuntia milpa alta*. **Carbohydrate Polymers**, v. 71, p. 403–410, 2008.

CALADO, V.; MONTGOMERY, D. **Planejamento de Experimentos usando o *Statistica***. E-papers Serviços Editoriais, Rio de Janeiro, 2003, 260 p.

CAMBUIM, K. B. **Carvão de endocarpo de coco da baía ativado quimicamente com  $H_3PO_4$  e fisicamente com vapor d'água: produção, caracterização e aplicações.** Tese (Doutorado em Química Analítica) - Programa de Pós-Graduação em Química - Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Universidade Federal da Paraíba, 2009.

CANEVAROLO JR., S. V. **Técnicas de caracterização de polímeros.** Artliber Editora, 2007, 448 p.

CAPITANI, M. I.; IXTAINA, V. Y.; NOLASCO, S. M.; TOMÁS, M. C. Microstructure, chemical composition and mucilage exudation of chia (*Salvia hispanica* L.) nutlets from Argentina. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 93, p. 3856–3862, 2013.

CÁRDENAS, A.; HIGUERA-CIAPARA, I.; GOYCOOLEA, F. Rheology and aggregation of cactus (*Opuntia ficus-indica*) mucilage in solution. **Journal of the Professional Association for Catus Development**, v. 2, p. 152-159, 1997.

CÁRDENAS, A.; ARGUELLES, W. M.; GOYCOOLEA, F. On the possible rol of *Opuntia ficus-indica* Mucilage in Lime Mortar Perfomance in the Protection of Historical Buildings. **Journal of the Professional Association for Catus Development**, v. 3, 1998.

CAROVIC-STANKO, K.; ORLIĆ, S.; POLITEO, O.; STRIKIĆ, F.; KOLAK, I.; MILOS, M.; SATOVIC, Z. Composition and antibacterial activities of essential oils of seven *Ocimum* taxa. **Food Chemistry**, v. 119, p. 196-201, 2010.

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

CARPITA, N. C.; MCCANN, M. The cell wall. In: BUCHANAN, B. B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. L. **Biochemistry & Molecular Biology of Plants**. USA: Courier, 52-108, 2000.

CAVALCANTE JR., C. L. **Separação de misturas por adsorção; dos fundamentos ao processo em escala comercial.** Tese submetida a concurso público para professor titular do Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 1998.

CHAKRAVARTY, S.; PIMPLE, S.; CHATURVEDI, H. T.; SINGH, S.; GUPTA, K.K., Removal of copper from aqueous solution using newspaper. **Journal of Hazardous Materials**, v. 159, p. 396-403, 2008.

CHARLES, A. L.; HUANG, T. C.; CHANG, Y. H. Structural analysis and characterization of a mucopolysaccharide isolated from roots of cassava (*Manihot esculenta* Crantz L.). **Food Hydrocolloids**, v. 22, p. 184–191, 2008.

CIPRIANI, T. R.; MELLINGER, C. G.; GORIN, P. A. J.; IACOMINI, M. An arabinogalactan isolated from the medicinal plant *Maytenus ilicifolia*. **Journal of Natural Products**, v. 67, p. 703-706, 2004.

CIUCANU, I.; KEREK, F. A simple and rapid method for the permethylation of carbohydrates. **Carbohydrate Research**, v. 131, p. 209-217, 1984.

COLOMBO, P.; MELATI, M. R.; SCIALABBA, A.; TRAPANI, S.; SORTINO, M. The Ecomorphology of *Carica quercifolia* Solms-Laub. in a Mediterranean Climate. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 27, p. 397-409, 1989.

COLONETTI, V. C. **Caracterização da mucilagem do fruto e cladódio de *Cereus hildmaniannus* K. Schum.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis/SC, 2012.

CONTADO, E. W. N. DA F.; PEREIRA, J.; EVANGELISTA, S. R.; LIMA JR., F. A.; ROMANO, L. M.; COUTO, E. M. Centesimal composition of lyophilized yam (*Dioscorea* spp.) mucilage compared with a commercial improver used in breadmaking and sensorial evaluation of pan breads. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 33, p. 1813 - 1818, 2009.

COONEY, D. O. **Adsorption design for wastewater treatment**. USA: Lewis Publishers, 1999.

CUI, W.; MAZZA, G. Physicochemical characteristics of flaxseed gum. **Food Research International**, v. 29, p. 397-402, 1996.

DALTIN, D. **Tensoativos: química, propriedades e aplicações**. Editora Edgard Blücher, São Paulo, 2011, 330 p.

DEA, I. C. M.; MADDEN, J. K. Acetylated pectic polysaccharides of sugar beet. **Food Hydrocolloids**, v. 1, p. 71-88, 1986.

DEL-VALLE, V.; HERNÁNDEZ-MUNÓZ, P.; GUARDA, A.; GALOTTO, M. J. Development of a cactus-mucilage edible coating (*Opuntia ficus indica*) and its application to extend strawberry (*Fragaria ananassa*) shelf-life. **Food Chemistry**, v. 91, p.751-756, 2005.

DELGOBO, C. L.; GORIN, P. A. J.; JONES, C.; IACOMINI, M. Gum heteropolysaccharide and free reducing mono- and oligosaccharides of *Anadenanthera colubrina*. **Phytochemistry**, v. 47, p. 1207-1214, 1998.

DEOGADE, U. M.; DESHMUKH, V. N.; SAKARKAR, D. M. Natural Gums and Mucilage's in NDDS: Applications and Recent approaches. **International Journal of PharmTech Research**, v.4, p 799-814, 2012.

DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, p. 350-428, 1956.

EDWIN, J.; EDWIN, S.; DOSI, S. Application of *Hibiscus* leaves mucilage as suspending agent. **Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research**, v. 41, p. 373-375, 2007.

ESPINO-DÍAZ, M.; ORNELAS-PAZ, J. DE J.; MARTÍNEZ-TÉLLEZ, M. A.; SANTILLÁN, C.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V.; ZAMUDIO-FLORES, P. B.; OLIVAS, G. I. Development and Characterization of Edible Films Based on Mucilage of *Opuntia ficus-indica* (L.). **Journal of Food Science**, v. 75, p. 347-352, 2010.

FERNOGLIO, I., FUBINI, B., GHIBAUDI, E. M., TURCI, F. Multiple aspects of the interaction of biomacromolecules with inorganic surfaces.

**Advanced Drug Delivery**

**Reviews**, v. 63, p. 1186–1209, 2011.

FERNANDES, R. **Adsorventes alternativos para remoção de fenol em solução aquosa**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Departamento de Engenharia Química e de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina/SC, 2005.

FERREIRA, J. A.; MARTIN-NETO, L.; VAZ, C. M. P.; REGINATO, J. B. Sorption interactions between imazaquin and a humic acid extracted from a typical brazilian oxisol. **Journal of Environmental Quality**, v. 31, p. 1665-1670, 2002.

FERRO-GARCÍA, M. A.; RIVERA-UTRILLA, J.; BAUTISTA-TOLEDO, I.; MORENO-CASTILLA, C. Adsorption of humic substances on activated carbon from aqueous solutions and their effect on the removal of Cr (III) ions. **Langmuir**, v. 14, p. 1880-1886, 1998.

FIGUEIREDO, A. M. D. **Preparação e caracterização de micropartículas de polissacáridos para libertação controlada de fármacos anticancerígenos no cólon**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química e Bioquímica) – Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa/Portugal, 2011.

FIGUEIRÓ, S. D.; MACÊDO, A. A. M.; MELO, M. R. S.; FREITAS, A. L. P.; MOREIRA, R. A.; OLIVEIRA, R. S. DE; GÓES, J. C.; SOMBRA, A. S. B. On the dielectric behaviour of collagen–algal sulfated polysaccharide blends: Effect of glutaraldehyde crosslinking. **Biophysical Chemistry**, v. 120, p. 154 – 159, 2006.

FREITAS, S. J.; BARROSO, D. G.; SILVA, R. F. DA; MARTINS, V. H. C. R.; FREITAS, M. D. S.; FERREIRA, P. R. Métodos de remoção da sarcotesta na germinação de sementes de Jaracatiá. **Revista Árvore**, v. 35, p. 91-96, 2011.

FREUNDLICH, H. **Physical Chemistry**, 57A, 1906, p. 385.

FOUST, A. S.; WENZEL, L. A.; CLUMP, C. W. **Princípio das operações unitárias**. Rio de Janeiro: Guanabara Dois, 1982.

FOX, D. I.; PICHLER, T.; YEH, D. H.; ALCANTAR, N. A. Removing heavy metals in water: The interaction of cactus mucilage and arsenate (As (V)). **Environmental Science e Technology**, v. 46, p. 4553–4559, 2012.

FU, Y.-C.; HUANG, P.-Y.; CHU, C.-J. Use of continuous bubble separation process for separating and recovering starchand mucilage from yam (*Dioscorea pseudojaponica yamamoto*). **LWT- Food Science and Technology**, v. 38, p. 735–744, 2005.

FUJIMOTO, J.; REIS, E. A. DE O.; PETRI, D. F. S.; CAMPANA FILHO, S. P. Formação de multicamadas de polissacarídeos e proteína. **Química Nova**, v. 25, p. 757-761, 2002.

GAIKAR, N. V.; SANDHYA, P.; CHAUDHARI, C. A. Evaluation of *Curculigo orchoides* mucilage as suspending agent. **International Journal of PharmTech Research**, v. 3, p 831-835, 2011.

GALATI, E. M.; MONFORTE, M. T.; TRIPODO, M. M.; D'AQUINO, A.; MONDELLO, M. R. Antiulcer activity of *Opuntia ficus indica* (L.) Mill. (Cactaceae): ultrastructural study. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 76, p. 1-9, 2001.

GALVANI, F.; GAERTNER, E. Adequação da metodologia Kjeldahl para determinação de nitrogênio total e proteína bruta. **EMBRAPA Pantanal - Circular Técnica** 63, 2006.

GAN, H. Y.; SHANG, Z. H.; WANG, J. D. New affinity nylon membrane used for adsorption of g-globulin. **Journal of Chromatography A**, v. 867, p. 161-168, 2000.

GAN, C.-Y.; MANAF, N. H. A.; LATIFF, A. A. Physico-chemical properties of alcohol precipitate pectin-like polysaccharides from *Parkia speciosa* pod. **Food Hydrocolloids**, v. 24, p. 471–478, 2010.

GANGURDE, A. B.; BORASTE, S. S. Preliminary evaluation of *Bauhinia racemosa* Lam Caesalpinaceae seed mucilage as tablet binder. **International Journal of Pharmacy**, v. 2, p. 80-83, 2012.

GANJI, F.; VASHEGHAMI-FARAHANI, E. Hydrogels in controlled drug delivery systems. **Iranian Polymer Journal**, v. 18, p. 63-88, 2009.

GARCÍA-OCHOA, F.; SANTOS, V. E.; CASAS, J. A.; GÓMEZ, E. Xanthan gum: production, recovery, and properties. **Biotechnology Advances**, v. 18, p. 549-579, 2000.

GARTI, N.; SLAVIN, Y.; ASERIN, A. Surface and emulsification properties of a new gum extracted from *Portulaca oleoracea*. **Food Hydrocolloids**, v. 13, p. 145-155, 1999.

GEBRESAMUEL, N.; GEBRE-MARIAM, T. Comparative physico-chemical characterization of the mucilages of two cactus pears (*Opuntia* spp.) obtained from Mekelle, Northern Ethiopia. **Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology**, v. 3, p. 79-86, 2012.

GILES, C. H.; MacEWAN, T. H.; NAKRWA, S. N.; SMITH, D. Y. Studies in adsorption. Part XI. A system of classification of solution adsorption isotherms, and its use in diagnosis of adsorption mechanisms and in measurement of specific surface areas of solids. **Journal of the Chemical Society**, v. 111, p. 3973 – 3993, 1960.

GINANI, M. F.; NAVARRO, M. V.; Do NASCIMENTO, E. G.; De OLIVEIRA, U. O. B. Estudo da influência da natureza de reticulantes e aditivos orgânicos sobre o comportamento de géis de quitosana. **Química Nova**, v. 22, p.801-803, 1999.

GINESTRA, G.; PARKER, M. L.; BENNETT, R. N.; ROBERTSON, J.; MANDALARI, G.; NARBAD, A.; CURTO, R. B. L.; BISIGNANO, G.; FAULDS, C. B. WALDRON, K. W. Anatomical, chemical, and biochemical characterization of cladodes from prickly pear [*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, p. 10323–10330, 2009.

GÖK, Ö.; ÖZCAN, A.; ERDEM, B.; ÖZCAN, A.S. Prediction of the kinetics, equilibrium and thermodynamic parameters of adsorption of copper (II) ions onto 8-hydroxy quinoline immobilized bentonite. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 317, p. 174-185, 2008.

GOLD ANALISA DIAGNÓSTICA LTDA. Disponível em:  
<http://www.goldanalisa.com.br/>

GOMIDE, R. **Operações Unitárias**. 1ª. Ed., São Paulo, Edição do autor, v. 4, Cap. IV, 311-331, 1988.

GONSALVES, A. De A.; ARAÚJO, C. R. M. Diferentes estratégias para a reticulação de quitosana. **Química Nova**, v. 34, p. 1215-1223, 2011.

GUPTA, S.; PEREIRA, L.; DUGAR, R.; PATIL, R. Polysaccharides from *Aloe* leaf mucilage as potential immunological-based anti-fertility agents. **International Journal of Pharmaceutical Science and Research**, v. 4, p. 440-444, 2013.

HELDT, H.W. **Plant biochemistry and molecular biology**. New York: Oxford Academic Press, p. 6-8, 1997.

HINZ, C. Description of sorption data with isotherm equations. **Geoderma**, v. 99, p. 225-243, 2001.

HOLDSWORTH, S. D. Applicability of rheological models to the interpretation of flow and processing behaviour of fluid food products. **Journal of Texture Studies**, v. 2, p.393-418, 1971.

HUANG. X.; KAKUDA, Y.; CUI, W. Hydrocolloids in emulsions: particle size distribution and interfacial activity. **Food Hydrocolloids**, v. 15, p. 533-542, 2001.

HUMERES, E.; DEBACHER, N. A.; GONZÁLEZ, G. **Química dos colóides: princípios básicos e aplicações**. Florianópolis: Departamento de Química – UFSC, 1998. 110p.

HUNTER, R. J. **Introduction to modern colloid science**. New York: Oxford University Press, 1993. 338p.

IAL – Instituto Adolfo Lutz. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**, 4ª ed., 1ª ed. online, São Paulo, 2008.

JANI, G. K.; SHAH, D. P.; JAIN, V. C.; PATEL, M. J.; VITHALANI, D. A. Evaluating mucilage from *Aloe barbadensis* Miller as a

pharmaceutical excipient for sustained-release matrix tablets.

**Pharmaceutical Technology**, v. 31, p. 90-98, 2007.

JANI, G. K.; SHAH, D. P. Assessing *Hibiscus rosa-sinensis* Linn as an excipient in sustained release tablets. **Pharmaceutical Technology**, v. 32, p. 62-75, 2008.

JANI, G. K.; SHAH, D. P.; PRAJAPATI, V. D.; JAIN, V. C. Gums and mucilages: versatile excipients for pharmaceutical formulations. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 4, p. 309-323, 2009.

JANSSON, P.; KENNE, L.; LIEDGREN, H.; LINDBERG, B.; LÖNNGREN, J. A practical guide to the methylation analysis of carbohydrates. **Journal of Chemistry Society, Chemistry Communications**, v. 48, p. 1-70, 1976.

JUSOH, A. B.; CHENG, W. H.; LOW, W. M.; NORA'AINI, A.; NOOR, M. J. M. M. Study on the removal of iron and manganese in groundwater by granular activated carbon. **Desalination**, v. 182, p. 347-353, 2005.

KAEWMANEE, T.; BAGNASCO, L.; BENJAKUL, S.; LANTERI, S.; MORELLI, C. F.; SPERANZA, G.; COSULICH, M. E. Characterisation of mucilages extracted from seven Italian cultivars of flax. **Food Chemistry**, v. 148, p. 60–69, 2014.

KAISER, C. R.; PITOMBO, L. F.; PINTO, A. C. C-13 and H-1 NMR assignments of the chamigrenes prepacifenol and dehydroxyprepacifenol epoxioes. **Spectroscopy Letters**, v. 31, p. 573-585, 1998.

KALAVATHY, M.H.; KARTHIKEYAN, T.; RAJGOPAL, S.; MIRANDA, L. R., Kinetic and isotherm studies of Cu (II) adsorption onto H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>-activated rubber wood sawdust. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 292, p. 354–362, 2005.

KAY, L. E.; BAX, A. Separation of NH and NH<sub>2</sub> resonances in <sup>1</sup>H-detected heteronuclear multiple-quantum correlation spectra. **Journal of Magnetic Resonance**, v. 84, p. 598-603, 1989.

KHALIFA, M. E. A.; ELGASIM, A. E.; ZAGHLOUL, A. H.; MAHFOUZ, M. B. Applications of inulin and mucilage as stabilizers in yoghurt production. **American Journal of Food Technology**, v. 6, p. 31-39, 2011.

KHULLER, P.; KHAR, R. K.; AGRAWAL, S. R. Evaluation of guar gum in the preparation of sustained-release matrix tablets. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 24, p. 1095-1099, 1998.

KIM, J. H.; LEE, H.-J.; PARK, Y.; RA, K. S.; SHIN, K.-S.; YU, K.-W.; SUH, H. J. Mucilage removal from cactus cladodes (*Opuntia humifusa* Raf.) by enzymatic treatment to improve extraction efficiency and radical scavenging activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 51, p. 337-342, 2013.

KINUPP, V. F. **Plantas alimentícias convencionais da região metropolitana de Porto Alegre, RS**. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Departamento de Horticultura e Silvicultura, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre/RS, 2007.

KITTUR, F. S.; HARISH PRASHANTH, K. V.; UDAYA SANKAR, K.; THARANATHAN, R. N. Characterization of chitin, chitosan and their carboxymethyl derivatives by differential scanning calorimetry. **Carbohydrate Polymers**, v. 49, p. 185-193, 2002.

KONTAXIS, G.; STONEHOUSE, J.; LAUE, E. D.; KEELER, J. The sensitivity of experiments which use gradient pulses for coherence-pathway selection. **Journal of Magnetic Resonance, Series A**, v. 111, p. 70-76, 1994.

KUMAR, R.; RAJARAJESHWARI, N.; SWAMY V. B. N. Exploitation of *Borassus flabellifer* fruit mucilage as novel natural gelling agent. **Der Pharmacia Lettre**, v. 4, p. 1202-1213, 2012.

LANGMUIR, I. The Adsorption of gases on plane surfaces of glass, mica, and platinum. **Journal of the American Chemical Society**, v. 40, p. 1361-1403, 1918.

LATOURRETTE, A. J.; POMBEIRO, O. **Técnicas e Operações Unitárias em Química Laboratorial**. 2ª Ed., Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1991.

- LEI, L.; JIANG, Q. Synthesis and properties of immobilized pectinase onto the macroporous polyacrylamide microspheres. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, p. 2592-2599, 2011.
- LEÓN, I.; ENRÍQUEZ, R. G.; MCLEAN, S.; REYNOLDS, W. F.; YU, M. Isolation and identification by 2D NMR of two new complex saponins from *Michrosetchium helleri*. **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 36, p. S111-S117, 1998.
- LEÓN-MARTÍNEZ, F. M.; MÉNDEZ-LAGUNAS, L. L.; RODRÍGUEZ-RAMÍREZ, J. Spray drying of nopal mucilage (*Opuntia ficus-indica*): effects on poder properties and characterization. **Carbohydrate Polymers**, v. 81, p. 864–870, 2010.
- LEONG, L. P.; SHUI, G. An investigation of antioxidant capacity of fruit in Singapore markets. **Food Chemistry**, v. 76, p.69-75, 2002.
- LEROUGE, P.; O'NEILL, M. A.; DARVILL, A. G.; ALBERSHEIM, P. Structural characterization of endo-glycanase-generated oligoglycosyl side chains of rhamnogalacturonan I. **Carbohydrate Research**, v. 243, p. 359-371, 1993.
- LIMA, A. C. Da S.; AFONSO, J. C. A Química do Refrigerante. **Química Nova na Escola**, v. 31, p. 210-215, 2009.
- LIMA JR., F. A.; CONCEIÇÃO, M. C.; RESENDE, J. V. DE; JUNQUEIRA, L. A.; PEREIRA, C. G.; PRADO, M. E. T. Response surface methodology for optimization of the mucilage extraction process from *Pereskia aculeata* Miller. **Food Hydrocolloids**, v. 33, p. 38-47, 2013.
- LIU, J. Y.; YANG, F. L.; LU, C. P.; YANG, Y. L.; WEN, C. L.; HUA, K. F.; WU, S. H. Polysaccharides from *Dioscorea batatas* induce tumor necrosis factor- $\alpha$  secretion via toll-like receptor 4-mediated protein kinase signaling pathways. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 9892–9898, 2008.
- LIU, X. Y.; ZHENG, S. W.; HONG, R. Y.; WANG, Y. Q.; FENG, W. G. Preparation of magnetic poly(styrene-co-acrylic acid) microsphereswith adsorption of protein. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 443, p. 425– 431, 2014.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação de plantas arbóreas nativas do Brasil**. 2 ed., Nova Odessa/SP: Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda., 1998, 368 p.

LOWRY, O. H.; BROUGH, N. J. R.; FARR, A. L.; RANDALL, R. J. **Protein measurement with the folin phenol reagent**. The Journal of Biological Chemistry, v. 193, p. 265-275, 1951.

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.

MATSUHIRO, B.; LILLO, L. E.; SÁENZ, C.; URZÚA, C. C.; ZÁRATE, O. Chemical characterization of the mucilage from fruits of *Opuntia ficus indica*. **Carbohydrate Polymers**, v. 63, p. 263–267, 2006.

MEDINA-TORRES, L.; LA FUENTE, E. B.-D; TORRESTIANA-SANCHEZ, B.; KATTHAIN, R. Rheological properties of the mucilage gum (*Opuntia ficus indica*). **Food Hydrocolloids**, v. 14, p. 417–424, 2000.

MELO, E. A.; MACIEL, M. I. S.; LIMA, V. L. A. G.; NASCIMENTO, R. J. Capacidade antioxidante de frutas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, p. 193-201, 2008.

MENZEL, C.; OLSSON, E.; PLIVELIC, T. S.; ANDERSSON, R.; JOHANSSON, C.; KUKTAITE, R.; JARNSTROM, L.; KOCH, K. Molecular structure of citric acid cross-linked starch films. **Carbohydrate Polymers**, v. 96, p. 270– 276, 2013.

**MERCK INDEX**: an encyclopedia of chemicals, drugs and biologicals. 12.ed. Withehouse Station, 1996.

MIKKONEN, K. S.; RITA, H.; HELÉN, H.; TALJA, R.A.; HYVÖNEN, L.; TENKAN, M. Effect of polysaccharide structure on mechanical and thermal properties of galactomannan based films. **Biomacromolecules**, v. 8, p. 3198-3205, 2007.

MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, v. 31, p. 426-428, 1959.

MISAKI, A.; ITO, T.; HARADA, T. Constitutional Studies on the mucilage of "Yamanoimo," *Dioscorea batatas Decne*, form a Tsukitne. Isolation and structure of a mannan. **Agricultural and Biological Chemistry**, v. 36, p. 761-771, 1972.

MISHRA, A.; YADAV, A.; PAL, S.; SINGH, A. Biodegradable graft copolymers of fenugreek mucilage and polyacrylamide: A renewable reservoir to biomaterials. **Carbohydrate Polymers**, v. 65, p. 58-63, 2006.

MOERMAN, F. T.; VAN LEEUWEN, M. B.; DELCOUR, J. A. Enrichment of higher molecular weight fractions in inulin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 3780-3783, 2004.

MOLZ, M. (2008). Disponível em: [www.ufrgs.br/fitoecologia/florars/open\\_sp.php?img=9261](http://www.ufrgs.br/fitoecologia/florars/open_sp.php?img=9261), acesso em 28/06/2013.

MOREIRA, R.; CHENLO, F.; SILVA, C.; TORRES, M. D.; DÍAZ-VARELA, D.; HILLIOU, L.; ARGENCE, H. Surface tension and refractive index of guar and tragacanth gums aqueous dispersions at different polymer concentrations, polymer ratios and temperatures. **Food Hydrocolloids**, v. 28, p. 284-290, 2012.

MOTHÉ, C. G.; RAO, M. A. Rheological behavior of aqueous dispersions of cashew gum and gum arabic: effect of concentration and blending. **Food Hydrocolloids**, v. 13, p. 501-506, 1999.

MUÑOZ, J.; RINCÓN, F.; ALFARO, M. C.; ZAPATA, I.; FUENTE, J.; BELTRÁN, O.; PINTO, G. L. Rheological properties and surface tension of *Acacia tortuosa* gum exudate aqueous dispersions. **Carbohydrate Polymers**, v. 70, p. 198-205, 2007.

NAMANE, A.; MEKARZIA, A.; BENRACHEDI, K.; BELHANECH-BENSEMRA, N.; HELLAL, A. Determination of the adsorption capacity of activated carbon made from coffee grounds by chemical activation with  $ZnCl_2$  and  $H_3PO_4$ . **Journal of Hazardous Materials**, B119: 189, 2005.

NCCLS. The National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard – Eighth Edition. NCCLS document M2-A8 [ISBN 1-56238-485-6]. NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2003.

NERKAR, P. P.; GATTANI, S. G. In vivo, in vitro evaluation of linseed mucilage based buccal mucoadhesive microspheres of venlafaxine. **Drug Delivery**, v. 18, p. 111–121, 2011.

NERKAR P. P.; GATTANI S. G. Oromucosal delivery of venlafaxine by linseed mucilage based gel: in vitro and in vivo evaluation in rabbits. **Archives of Pharmacal Research**, v. 36, p. 846-853, 2013.

NETO, C. G. T.; DANTAS, T. N. C.; FONSECA, J. L. C.; PEREIRA, M. R. Permeability studies in chitosan membranes. Effects of crosslinking and poly(ethylene oxide) addition. **Carbohydrate Research**, v. 340, p. 2630-2636, 2005.

NGUIMBOU, R. M.; BOUDJEKO, T.; NJINTANG, N. Y.; HIMEDA, M.; SCHER, J.; MBOFUNG, C. M. F. Mucilage chemical profile and antioxidant properties of giant swamp taro tubers. **Journal of Food Science and Technology**, v. 51, p. 3559-3567, 2012.

NITSCHKE, M.; PASTORE, G. M. Biossurfactantes: propriedades e aplicações. **Química Nova**, v. 25, p. 772-776, 2002.

NOBEL, P.; CAVELIER, J.; ANDRADE, J. L. Mucilage in cacti: its apoplastic capacitance, associated solutes, and influence on tissue water relations. **Journal of Experimental Botany**, v. 43, p. 641–648, 1992.

NUNES, D. L. **Preparação de carvão ativado a partir de torta prensada de *Raphanus sativus* L. e utilização para clarificação de soluções**. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte/MG, 2009.

OLSSON, E.; HEDENQVIST, M. S.; JOHANSSON, C.; JARNSTROM, L. Influence of citric acid and curing on water sorption, diffusion and permeability of starch films. **Carbohydrate Polymers**, v. 94, p. 765–772, 2013.

ORÉFICE, R.L.; PEREIRA, M.M.; MANSUR, H.S. **Biomateriais: fundamentos e aplicações**, 1ª ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.

OSBORN, H. M. I.; LOCHEY, F.; MOSLEY, L.; READ, D. Analysis of polysaccharides and monosaccharides in the root mucilage of maize (*Zea mays* L.) by gas chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 831, p. 267–276, 1999.

OSCHKINAT, H.; MÜLLER, T.; DIECKMANN, T.; ANGEW. Protein structure determination with three- and four-dimensional NMR spectroscopy. **Angewandte Chemie International Edition in English**, v. 33, p. 277-293, 1994.

OSIRO, D.; DELLA COLETA FILHO, H.; MACHADO, M. A.; COLNAGO, L. A. Uso de FTIR para análise de bactérias causadoras do cancro cítrico e CVC. In: **EMBRAPA** – Centro Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento de Instrumentação Agropecuária – Comunicado Técnico nº 40, p. 1-5, 2000.

OVODOVA, R. G.; GOLOVCHENKO, V. V.; POPOV, S. V.; POPOVA, G. Y.; PADERIN, N. M.; SHASHKOV, A. S.; OVODOV, Y. S. Chemical composition and anti-inflammatory activity of pectic polysaccharide isolated from celery stalks. **Food Chemistry**, v. 114, p. 610-615, 2009.

PACE, G. W. Microbial Gums. In: Bu'Lock, J. E.; Kristiansen, B. **Basic Biotechnology**. London: Academic Press, 1987.

PALHA, P.G. **Tecnologia de refrigerantes**. Rio de Janeiro: AmBev, 2005.

PICHOT, C.; DELAIR, T.; ELAISSARI, A. **Polymer Colloids for Biomedical and Pharmaceutical Applications in Polymeric Dispersions: Principles and Applications**, J.M. Asua (Eds.). Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1997.

PILETTI, R. **Extração da mucilagem da tuna (*Cereus hildmaniannus* K. Schum) para aproveitamento industrial**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Departamento de Engenharia Química e

Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis/SC, 2011.

PLONCOSKI, R. **Extração de Cu (II) de soluções alcóolicas empregando hidrogel de quitosana/epicloridrina**. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Química) - Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis/SC, 2009.

PONEC, V.; KNOR, Z.; CERNY, S. **Adsorption on solids**, Butterworth e Co Publishers, London, 1974.

POPOV, S. V.; OVODOVA, R. G.; GOLOVCHENKO, V. V.; PUPOVA, G. Y.; VIATYASEV, F. V.; SHASHKOV, A. S. OVODOV, Y. S. Chemical composition and anti-inflammatory activity of a pectic polysaccharide isolated from sweet pepper using a simulated gastric medium. **Food Chemistry**, v. 124, p. 309-315, 2011.

PRABU, K.; NATARAJAN, E. Isolation and FTIR spectroscopy characterization of chitin from local sources. **Advances in Applied Science Research**, v. 3, p. 1870-1875, 2012.

PRAZERES, D. M. F.; FERREIRA, G. N. M. Design of flowsheets for the recovery and purification of plasmids for gene therapy and DNA vaccination. **Chemical Engineering and Processing**, v. 43, p. 615-630, 2004.

PRUD'HOMME, R. K.; LONG, R. E. Surface tensions of concentrated xanthan and polyacrylamide solutions with added surfactants. **Journal of Colloid & Interface Science**, v. 93, p. 274-276, 1983.

PU, X.-M.; WEI, K.; ZHANG, Q.-Q. In situ forming chitosan/hydroxyapatite rods reinforced via genipin crosslinking. **Materials Letters**, v. 94, p. 169-171, 2013.

PUJANA, M. A.; PÉREZ-ÁLVAREZ, L.; ITURBE, L. C. C.; KATIME, I. Water dispersible pH-responsive chitosan nanogels modified with biocompatible crosslinking-agents. **Polymer**, v. 53, p. 3107-3116, 2012.

PUJANA, M. A.; PÉREZ-ÁLVAREZ, L.; ITURBE, L. C. C.; KATIME, I. Biodegradable chitosan nanogels crosslinked with genipin. **Carbohydrate Polymers**, v. 94, p. 836– 842, 2013.

PUJANA, M. A.; PÉREZ-ÁLVAREZ, L.; ITURBE, L. C. C.; KATIME, I. Water soluble folate-chitosan nanogels crosslinked by genipin. **Carbohydrate Polymers**, v. 101, p. 113– 120, 2014.

QADRY, J. S. **Shah and Qadry's Pharmacognosy**. Ahmedabad, Índia: B S Shah Prakashan, 2008.

RADHIKA, M.; PALANIVELU, K. Adsorptive removal of chlorophenols from aqueous solution by low cost adsorbent—Kinetics and isotherm analysis. **Journal of Hazardous Materials**, v. 138, p. 116-124, 2006.

RAMÍREZ-MORENO, E.; CÓRDOBA-DÍAZ, D.; SÁNCHEZ-MATA, M. DE C.; DÍEZ-MARQUÉS, C.; GOÑI, I. Effect of boiling on nutritional, antioxidant and physicochemical characteristics in cladodes (*Opuntia ficus indica*). **LWT - Food Science and Technology**, v. 51, p. 296-302, 2013.

RANGARI, N. T.; KALYANKAR, T. M.; PURANIK, P. K.; CHAUDHARI, S. R. Permeation studies of pioglitazone HCl from *Ficus carica* fruit mucilage matrix transdermal patches. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 3, p. 3927-3931, 2012.

RANGEL, R. N. **Práticas de físico-química**. Editora Edgard Blücher, São Paulo, 3ª edição revisada e ampliada, 2013, 336 p.

RAY, S.; PAYNEL, F.; MORVAN, C.; LEROUGE, P.; DRIOUICH, A.; RAY, B. Characterization of mucilage polysaccharides, arabinogalactanproteins and cell-wall hemicellulosic polysaccharides isolated from flax seed meal: A wealth of structural moieties. **Carbohydrate Polymers**, v. 93, p. 651– 660, 2013.

REDDY, N.; YANG, Y. Citric acid cross-linking of starch films. **Food Chemistry**, v. 118, p. 702–711, 2010.

- REID, J. S. G. Carbohydrate metabolism: structural carbohydrates. In: DEY, P. M.; HARBORNE, J. B. **Plant Biochemistry**. Bristol: Academic Press, p. 205-236, 1997.
- RENARD, C. M. G. C.; LAHAYE, M.; MUTTER, M., VORAGEN, F. G. J.; THIBAUT, J. F. Isolation and structural characterisation of hamnogalacturonan oligomers generated by controlled acid hydrolysis of sugar-beet pulp. **Carbohydrate. Research**, v. 305, p. 271-280, 1998.
- ROCHA, J. F.; PIMENTEL, R. R.; MACHADO, S. R. Estruturas secretoras de mucilagem em *Hibiscus pernambucensis* Arruda (Malvaceae): distribuição, caracterização morfoanatômica e histoquímica. **Acta Botânica Brasileira**, v. 25, p. 751-763, 2011.
- RODRIGUES, J. F.; PAULA, R. C. M. De; COSTA, S. M. O. Métodos de Isolamento de Gomas Naturais: Comparação através da goma do Cajueiro (*Anacardium occidentale* L). **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 3, p. 31-36, 1993.
- RUTHVEN, D. M. **Principles of Adsorption and Adsorption Process**. USA: John Wiley e Sons Inc., 1984.
- RUTHVEN, D. M. **Encyclopedia of Separation Technology**, 1, Kirk-Othmer Encyclopedia, 1st Ed., John Wiley e Sons, New York, 1997.
- SALAME, I. I.; BAANDORZ, J. T. Role of surface chemistry in adsorption of phenol on activated carbons. **Journal of Colloids and Interface Science**, v. 264, p. 307-312, 2003.
- SANDERS, J. K. M.; MERSH, J. D. Nuclear magnetic double resonance; the use of difference spectroscopy. **Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy**, v. 15, p. 353-400, 1983.
- SANTONI, N.; MATOS, M.; MÜLLER-KARGER, C.; NICOLA, H.; SABINO, M.; MÜLLER, A. Caracterización de hidrogeles de quitosano entrecruzados covalentemente con genipina. **Revista Iberoamericana de Polímeros**, v. 9, p. 326-330, 2008.
- SASSAKI, G. L.; GORIN, P. A. J.; SOUZA, L. M.; CZELUSNIAK, P. A.; IACOMINI, M. Rapid synthesis of partially *O*-methylated alditol acetate standards for GC-MS: some relative activities of hydroxyl

groups of methyl glycopyranosides on Purdie methylation.

**Carbohydrate Research**, v. 340, p. 731-739, 2005.

SASSAKI, G. L.; SOUZA, L. M.; CIPRIANI, T. R.; IACOMINI, M. TLC of carbohydrates. In M. Waksmundzka-Hajnos, J. Sherma, & T. Kowalska (Eds.). **Thin layer chromatography in phytochemistry**. USA: CRC Press, p. 255–276, 2008.

SCHNEEMAN, B. O. Dietary fiber: physical and chemical properties, methods of analysis, and physiological effects. **Food Technology**, v. 40, p. 104-110, 1986.

SCHMAL, M. **Catálise heterogênea**. Synergia Editora, Rio de Janeiro, 2011, 376 p.

SCHMIDT, J. M.; RÜTERJANS, H. Proton-detected 2D heteronuclear shift correlation via multiple-quantum coherences of the type I2S. **Journal of the American Chemical Society**, v. 112, p. 1279-1280, 1990.

SCHMOURLO, G.; MENDONCA-FILHO, R. R.; ALVIANO, C. S.; COSTA, S. S. Screening of antifungal agents using ethanol precipitation and bioautography of medicinal and food plants. **Journal ethnopharmacological**, v. 96, p. 563–568, 2005.

SCHRAMM, G. **Reologia e reometria: fundamentos teóricos e práticos**. Artliber Editora, 2006, 240 p.

SCHWANKE, R. O. **Determinação da difusividade de hidrocarbonetos aromáticos em zeólitas y por métodos cromatográficos**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Departamento de Engenharia Química e de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis/SC, 2003.

SHAW, D. J. **Introduction to Colloid and Surface Chemistry**. 4th edition. London: Butterworth-Heinemann, 1994. 306p.

SHIRAHATA, N.; YONEZAWA, T.; MIURA, Y.; KOBAYASHI, K.; KOUMOTO, K. Patterned Adsorption of Protein onto a Carbohydrate Monolayer Immobilized on Si. **Langmuir**, v. 19, p. 9107-9109, 2003.

SHOTTON, E.; WIBBERLEY, K. Interfacial films between benzene and solutions of arabic acid salts. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 11, p. 120T–126T, 1959.

SKIPSKI, V. P. Thin layer chromatography of neutral glycolipids. **Methods in Enzymology**, v. 35, p. 396–425, 1975.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. **Identificação espectrofotométrica de compostos orgânicos**. 7ª edição, Rio de Janeiro: LTC, 2006.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: UFRGS Editora, Florianópolis: Editora da UFSC, 2007, 1104 p.

SINGH, K.; KUMAR, A.; LANGYAN, N.; AHUJA, M. Evaluation of *Mimosa pudica* seed mucilage as sustained-release excipient. **AAPS PharmSciTech**, v. 10, p. 1121-1127, 2009.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdc-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 20, p.144-158, 1965.

SUN, Y. C.; WEN, J. L.; XU, F.; SUN, R. C. Structural and thermal characterization of hemicelluloses isolated by organic solvents and alkaline solutions from *Tamarix austromongolica*. **Bioresource Technology**, v. 102, p. 5947-5951, 2011.

STONE, S. A.; GOSAVI, P.; ATHAUDA, T. J.; OZER, R. R. In situ citric acid crosslinking of alginate/polyvinylalcohol electrospun nanofibers. **Materials Letters**, v. 112, p. 32-35, 2013.

TAVARES, S. A.; PEREIRA, J.; GUERREIRO, M. C.; PIMENTA, C. J.; PEREIRA, L.; MISSAGIA, S. V. Physical and chemical characteristics of the mucilage of lyophilized yam. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, p. 973 -979, 2011.

TEIXEIRA, D. M. A.; BRAGA, R. C.; HORTA, A. C. G.; MOREIRA, R. A.; BRITO, A. C. F. De; MACIEL, J. S.; FEITOSA, J. P. A.; PAULA, R. C. M. De. *Spondias purpurea* exudate polysaccharide as

affinity matrix for the isolation of a galactose-binding-lectin.

**Carbohydrate Polymers**, v. 70, p. 369–377, 2007.

TEIXEIRA-SÁ, D. M. A.; REICHER, F.; BRAGA, R. C.; BELTRAMINI, L. M. Isolation of a lectin and a galactoxyloglucan from *Mucuna sloanei* seeds. **Phytochemistry**, v. 70, p. 1965-1972, 2009.

TEMKIN, M. I.; PYZHEV, V. Recent modifications to Langmuir isotherms. **Acta Physiochim**, URSS, v. 12, p. 217-222, 1940.

THOMAS, L. V.; ARUN, U.; REMYA, S.; NAIR, P. D. A biodegradable and biocompatible PVA–citric acid polyester with potential applications as matrix for vascular tissue engineering. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 20, p. S259–S269, 2009.

TORRES, M. A.; VIEIRA, R. S.; BEPPU, M. M.; SANTANA, C. C. Produção e caracterização de microesferas de quitosana modificadas quimicamente. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 15, p. 306-312, 2005.

TORRES, M. J.; TREJO, S. A.; MARTIN, M. I.; NATALUCCI, C. L.; AVILÉS, F. X.; LÓPEZ, L. M. I. Purification and characterization of a cysteine endopeptidase from *Vasconcellea quercifolia* A. St.-Hil. Latex displaying high substrate specificity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, p. 11027–11035, 2010.

TOMODA, M.; GONDA, R.; SHIMIZU, N.; NAKANISHI, S.; HIKINO, H. A mucilage from *Hibiscus moscheutos* leaves. **Phytochemistry**, v. 26, p. 2297-2300, 1987.

TRACHTENBERG, S.; MAYER, A. M. Composition and properties of *Opuntia ficus indica* mucilage. **Phytochemistry**, v. 20, p. 2665–2668, 1981.

VAN DROOGENBROECK, B.; KYNDT, T.; MAERTENS, I.; ROMEIJN-PEETERS, E.; SCHELDEMAN, X.; ROMERO-MOTOCHI, J.; VAN DAMME, P.; GOETGHEBEUR, P.; GHEYSEN, G. Phylogenetic analysis of the highland papayas (*Vasconcellea*) and allied genera (*Caricaceae*) using PCR-RFLP. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 108, p. 1473-1486, 2004.

WANG, J.; SOMASUNDARAN, P. Mechanisms of ethyl(hydroxyethyl) cellulose-solid interaction: Influence of hydrophobic modification. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 293, p. 322-332, 2006.

WANG, S.; REN, J.; LI, W.; SUN, R.; LIU, S. Properties of polyvinyl alcohol/xylan composite films with citric acid. **Carbohydrate Polymers**, v. 103, p. 94-99, 2014.

WARD, O. P. **Fermentation Biotechnology Principles**. England: John Wiley & Sons, 1989.

WARD, O. P. **Bioprocessing**. New York: Van Nostrand Reinhold, 1991.

WEBER, W. J. **Physicochemical processes for water quality control**. New York: John Wiley & Sons, 1972.

WHISTLER, R. L. **The Carbohydrates: Chemistry and Biochemistry**. London: Academic Press, p. 447-458, 1970.

WOLFROM, M. L.; THOMPSON, A. Acetylation. In: **Methods in Carbohydrate Chemistry**, v. 2, p. 211-215, 1963a.

WOLFROM, M. L.; THOMPSON, A. Reduction with sodium borohydride. In: **Methods in carbohydrate chemistry**, v. 2, p. 65-67, 1963b.

YANG, C. Q.; ANDREWS, B. A. K. Infrared spectroscopic studies of the nonformaldehyde durable press finishing of cotton fabrics by use of polycarboxylic acids. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 43, p. 1609-1616, 1991.

YANG, C. Q.; WANG, X. Formation of cyclic anhydride intermediates and esterification of cotton cellulose by multifunctional carboxylic acids: An infrared spectroscopy study. **Textile Research Journal**, v. 66, p. 595-603, 1996.

YANG, Y.; WANG, L.; LI, S. J. Formaldehyde-free zein fiber-preparation and investigation. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 59, p. 433-441, 1996.

YANG, C. Q.; WANG, X.; KANG, I. Ester cross-linking of cotton fabric by polymeric carboxylic acids and citric acid. **Textile Research Journal**, v. 67, p. 334–342, 1997.

YEH, A.-I.; CHAN, T.-Y.; CHUANG, G. C.-C. Effect of water content and mucilage on physico-chemical characteristics of Yam (*Discorea alata Purpurea*) starch. **Journal of Food Engineering**, v. 95, p. 106–114, 2009.

YEOLE, P. G.; NAKHAT, P. D.; GALGATTE, U. C.; BABLA, I. C. Design and evaluation of xanthan gum-based sustained release matrix tablets of diclofenac sod. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 68, p. 185-189, 2006.

YI, Y.; WANG, Y.; LIU, H. Preparation of new cross-linked with crown ether and their adsorption for silver ion for antibacterial activities. **Carbohydrate Polymer**, v. 53, p. 425-430, 2003.

YU, L.; LU, Z.; GAN, Y.; LIU, Y.; LI, C. M. AFM study of adsorption of protein A on a poly(dimethylsiloxane) surface. **Nanotechnology**, v. 20, 285101 doi:10.1088/0957-4484/20/28/285101, 2009a.

YU, L.; FINK, G.; WINTGENS, T.; MELIN, T.; TERNES, T. A. Sorption behavior of potential organic wastewater indicators with soils. **Water Research**, v.43, p. 951–960, 2009b.

ZHAO, N.; WEI N.; LI, J.; QIAO, Z.; CUI, J.; HE, F. Surface properties of chemically modified activated carbons for adsorption rate of Cr (VI). **Chemical Engineering Journal**, v. 115, p. 133-138, 2005.

ZIOLKOVSKA, A. Laws of flaxseed mucilage extraction. **Food Hydrocolloids**, v. 26, p. 197-204, 2012.

ZOGORSKY, J. S.; FAUST, S. D.; HASS, J. H. JR. The Kinetics adsorption of phenols by granular activated carbon. **Journal of Colloid and Interface Science**, v 55, p 329-341, 1976.

ZOHURIAAN, M. J.; SHOKROLAHI, F. Thermal studies on natural and modified gums. **Polymer Testing**, v. 23, p. 575-579, 2004.