Tratamento térmico e químico para controle da atividade da poligalacturonase no albedo do maracujá

Patrícia Rodrigues Ferreira[1], Simone Vilela Talma[1], Meire Lelis Leal Martins[1], Caroline Mellinger Silva[2] e Eder Dutra de Resende[1]

[1]Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, Laboratório de Tecnologia de Alimentos, Avenida Alberto Lamego, nº 2.000, Parque Califórnia, CEP 28013-602 Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil. E-mail: patriciarodriguesf@yahoo.com.br, simonevtalma@yahoo.com.br, meire@uenf.br, eresende@uenf.br [2]Embrapa Agroindústria de Alimentos, Laboratório de Bioquímica, Avenida das Américas, nº 29.501, Guaratiba, CEP 23020-470 Rio de Janeiro, RJ, Brasil. E-mail: caroline.mellinger@embrapa.br

Resumo – O objetivo deste trabalho foi avaliar tratamentos térmicos e químicos com Ca^{2+}, no controle da atividade da poligalacturonase e de seus efeitos no rendimento de extração e no grau de esterificação da pectina do albedo da casca de maracujá-amarelo (*Passiflora edulis*). Utilizaram-se cascas de frutos com coloração verde-clara, as quais foram lavadas, sanitizadas, trituradas e deixadas em repouso em água, para suspensão do albedo. O albedo foi recolhido e submetido à temperatura de 90ºC a 30, 60 e 120 min, ou a concentrações de cálcio de 0,01 e 1% durante 1 hora de agitação de 400 rpm, em temperatura ambiente. Realizou-se, também, o tratamento térmico do extrato enzimático bruto obtido do albedo a 65, 75 e 85°C. O tratamento térmico do albedo a 90°C não inativou a poligalacturonase após 120 min. A inativação da enzima extraída do albedo ocorreu após incubação a 65, 75 e 85°C por 30, 20 e 10 min, respectivamente. O tratamento com íons de cálcio a 1% promoveu o bloqueio enzimático e a redução no conteúdo de ácidos urônicos livres (AUL) da pectina. O tratamento do albedo de maracujá com solução de 1% de Ca^{2+} por 1 hora inibe a atividade da poligalacturonase e reduz o conteúdo de AUL.

Termos para indexação: *Passiflora edulis*, casca de maracujá, esterificação da pectina, inativação enzimática.

Thermal and chemical treatments to control polygalacturonase activity in passion fruit albedo

Abstract – The objective of this work was to evaluate the use of thermal and chemical treatments with Ca^{2+}, in order to control the activity of polygalacturonase and its effects on extraction yield and degree of pectin esterification from albedo of yellow passion fruit (*Passiflora edulis*) rind. Rinds of fruit with light-green peel were washed, sanitized, grind, and left to stand in water for albedo suspension. Albedo was collected and subjected to a temperature of 90ºC for 30, 60, and 120 min, or to calcium levels of 0.01 and 1% during 1 hour of stirring, at 400 rpm, at ambient temperature. Thermal treatment of the crude enzymatic extract obtained from the albedo at 65, 75, and 85ºC was also performed. The thermal treatment of the albedo at 90ºC did not inactivate polygalacturonase after 120 min. The inactivation of the enzyme extracted from the albedo occurred after incubation at 65, 75, and 85ºC for 30, 20, and 10 min, respectively. The treatment with calcium ion solution at 1% promoted enzymatic inactivation and a decrease in the content of free carboxylic acids (FCA) of pectin. The treatment of passion fruit albedo with calcium Ca^{2+} solution at 1% for 1 hour inhibits the polygalacturonase activity and decreases the content of FCA.

Index terms: *Passiflora edulis*, passion fruit rind, esterification of pectin, enzymatic inactivation.

Introdução

O Brasil é um grande produtor e consumidor de maracujá (*Passiflora* sp.), com safra de mais de 823 mil toneladas de frutos em 2014 (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2014). Embora grande parte desta produção seja utilizada pelas agroindústrias, descartam-se mais de 50% da massa dos frutos constituída de resíduos de cascas (Oliveira & Resende, 2012), o que reforça a necessidade de estudos relativos ao aproveitamento desses resíduos, que, em geral, são descartados de forma incorreta no ambiente.

Com a disponibilidade de tecnologias adequadas, a casca do maracujá pode ser convertida em produtos comerciais, como, por exemplo, farinha de maracujá, ou em ingrediente intermediário em novos alimentos,

pois a farinha de maracujá contém níveis elevados de vitaminas, minerais, antioxidantes polifenólicos e fibra dietética, que podem ter efeitos positivos para a saúde (Ayala-Zavala et al., 2011).

A farinha de maracujá encontrada no mercado é feita a partir da casca bruta que contém epicarpo (flavedo) e mesocarpo (albedo), mas que apresenta tonalidade escura, entre outras características sensoriais não desejáveis. Oliveira & Resende (2012) observaram que a remoção do epicarpo do maracujá permite a obtenção do albedo puro, que apresenta tonalidade branca e proporciona a fabricação de uma farinha de cor clara e odor agradável. Essa farinha do albedo de maracujá tem sido proposta para uma variedade de alimentos, que incluem produtos à base de carne (López-Vargas, 2014), e para a formulação de filmes flexíveis (Nascimento et al., 2012).

No entanto, a casca de maracujá contém enzimas, como a poligalacturonase (PG) que atua na despolimerização das substâncias pécticas da parede celular e é encontrada em diversos frutos (Canteri et al., 2012). Dessa forma, é necessário o uso de tratamentos para inativar ou impedir a ação dessa enzima e preservar as características químicas da pectina presente na farinha do albedo. Normalmente, a inativação de enzimas é conseguida por meio de tratamento térmico que promove a sua desnaturação. Outra técnica que tem se mostrado eficaz são os tratamentos com íons de cálcio (Ca^{2+}) que se ligam às pectinas e formam pontes de cálcio entre os ácidos pécticos, o que dificulta o acesso e a ação de enzimas pectolíticas produzidas pelo fruto, as quais causam amaciamento, e daquelas produzidas por fungos e bactérias, as quais causam deterioração (Mota et al., 2002). Contudo, a eficiência do tratamento térmico tem sido avaliada apenas no material enzimático extraído da polpa dos vegetais, e não há relatos na literatura da análise da efetividade de tratamentos térmicos ou químicos aplicados diretamente no homogeneizado do albedo in natura, para o controle da atividade da PG. Além disso, ainda não se conhecem os efeitos desses tratamentos sobre o rendimento de extração e o grau de esterificação da pectina presente no albedo homogeneizado da casca do maracujá.

A inativação ou o bloqueio enzimático da PG representa uma etapa fundamental para a manutenção da qualidade original da pectina presente na massa de albedo. O grau de esterificação é uma das propriedades importantes nas aplicações da pectina, uma vez que influencia o processo de geleificação (Liew et al., 2014).

O objetivo deste trabalho foi avaliar tratamentos térmicos e químicos com Ca^{2+}, no controle da atividade da poligalacturonase e de seus efeitos no rendimento de extração e no grau de esterificação da pectina do albedo da casca de maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* Sims).

Material e Métodos

Os frutos de maracujazeiro amarelo utilizados foram colhidos em lavoura comercial localizada no município de São José de Ubá, RJ, no período da manhã. Os frutos foram embalados em caixas de plástico e transportados para o laboratório onde foram lavados e sanitizados com solução de hipoclorito (1 mL L^{-1}) por 15 min, e, em seguida, mantidos sob refrigeração a 10ºC e 90% de umidade relativa até o processamento.

A coloração da casca foi medida em espectrofotômetro MiniScan XE Plus (Hunter Associates Laboratory, Inc., Reston, VA, EUA), com as seguintes configurações: iluminante D65 e ângulo de observação de 10°. As medidas foram realizadas em dois pontos equidistantes da face exposta e não exposta do fruto ao sol, na região mediana da parte superior (pedúnculo) e inferior (base) dos frutos. Medidas do parâmetro de Hunter b foram utilizadas para definir a escala de maturação dos frutos, como descrito por Silva et al. (2008).

Os frutos, 12 para cada tratamento térmico e químico, foram cortados ao meio com uma faca de aço inoxidável, e, após a remoção do endocarpo (polpa) com uso de espátula, as cascas foram imediatamente trituradas em aparelho liquidificador Philips Walita RI 2081 (Philips do Brasil, Barueri, SP) adaptado com tela de 1,5 mm de diâmetro, para evitar a presença de partículas grandes que agregam o material do epicarpo. O material da casca foi colocado no interior da tela do liquidificador e submetido a um fluxo de água destilada, para facilitar o arraste das partículas através de tubulação conectada a um recipiente para recolhimento do material triturado e homogeneizado da casca bruta.

Para a obtenção do albedo, o material homogeneizado da casca bruta foi deixado em repouso em um recipiente com água, para decantação do epicarpo e suspensão do

albedo, o qual foi recolhido e imediatamente prensado em malha de tecido sintético, para remoção do excesso de água. Posteriormente, o albedo foi pesado em balança eletrônica modelo BG 2000 (Gehaka, São Paulo, SP), embalado em papel alumínio e armazenado em ultrafreezer a -80ºC, para posterior análise.

O tratamento térmico foi realizado em banho ultratermostático, em unidade ultratermostática SL 130/42 (Solab Equipamentos para Laboratório, Ltda., Piracicaba, SP), que continha uma cuba de aço inoxidável de 40 L. A cuba era revestida com uma jaqueta de etileno glicol de 20 L conectada a um tanque de aquecimento de 40 L e a um tanque de congelamento de 110 L, a -20ºC, para possibilitar o resfriamento rápido do material após o tratamento térmico.

Na avaliação do tratamento térmico, utilizou-se 1 kg do albedo em cada uma das três repetições dos tempos avaliados. O albedo foi suspenso em 32 L de água destilada previamente aquecida a 90ºC. A temperatura foi mantida constante por meio de agitação mecânica da suspensão dentro da cuba aquecida e pela recirculação do material por serpentina acoplada no tanque de aquecimento, com auxílio de bomba peristáltica. O tratamento térmico do albedo foi realizado nos seguintes intervalos de tempo: 0 (controle), 30, 60 e 120 min e, imediatamente, o resfriamento até 30ºC por 3 min. O albedo foi recolhido e prensado em malha de tecido sintético para remoção do excesso de água. Amostras deste material foram embaladas em papel alumínio, congeladas em nitrogênio líquido e armazenadas em ultrafreezer a -80°C.

Para a extração da PG, foi utilizado o método descrito por Silva et al. (2006), com algumas modificações. Amostras de 10 g do albedo foram homogeneizadas por 5 min, a 4ºC, com 20 mL de solução tampão de acetato de sódio 0,05 mol L^{-1}, pH 5,0, contendo 1 mol L^{-1} de NaCl e 1% de polivinilpolipirrolidona (PVPP), em triturador Turratec modelo TE-102 (Tecnal Equipamentos Científicos, Piracicaba, SP). O material foi filtrado em duas camadas de tecido de algodão, e o filtrado foi centrifugado a 18.363 *g* por 30 min em centrífuga modelo 5415 C (Eppendorf AG, Hamburg, Alemanha) refrigerada a 1ºC. O sobrenadante (extrato enzimático bruto) foi utilizado para a dosagem da atividade da PG.

A atividade da PG foi determinada por meio da quantificação dos açúcares redutores liberados pela hidrólise do ácido poligalacturônico, de acordo com o método de Miller (1959). O extrato enzimático bruto (0,2 mL) foi incubado com uma solução de ácido poligalacturônico 0,45% (m/v) dissolvido em 2,0 mL de tampão acetato de sódio 0,05 mol L^{-1}, pH 3,6, a 45ºC, por 1 hora. Após este período, foi adicionado 1 mL de ácido 3,5 dinitrossalicílico (DNS) para cessar a reação; esta mistura ficou em ebulição em banho-maria por 10 min e, em seguida, foi resfriada em banho de gelo por 5 min. A cor da solução foi medida em espectrofotômetro Shimadzu UVmini-1240 (Shimadzu do Brasil, São Paulo, SP), a 540 nm. Uma unidade de atividade foi considerada como a quantidade de enzima capaz de gerar 1 μmol de ácido galacturônico por minuto sob as condições experimentais, por meio de curva-padrão de ácido galacturônico. O mesmo procedimento foi realizado com o controle; a única diferença foi que o reagente de Miller (DNS) foi adicionado juntamente com o sobrenadante e a solução de ácido poligalacturônico.

A estabilidade térmica da PG também foi avaliada no extrato enzimático bruto (sobrenadante) e determinada por meio da sua incubação a 65, 75 e 85ºC. A cada 5 min, amostras foram retiradas e imediatamente acondicionadas em banho de gelo para posterior ensaio da atividade da PG. Para cada temperatura e intervalo de inativação, foram analisadas três repetições. Os resultados foram expressos como atividade residual (%) da enzima PG em relação à atividade máxima encontrada na amostra que não passou por inativação enzimática.

Na avaliação do tratamento com cálcio, 1 kg do albedo foi imerso em 32 L de solução aquosa de $CaCl_2$, nas concentrações de 0,01 e 1% (m/v) de Ca^{2+} por 1 hora, sob agitação constante de 400 rpm, em agitador mecânico modelo 713D (Fisatom Equipamentos Científicos Ltda., São Paulo, SP). O tratamento controle consistiu nas mesmas condições do ensaio, mas sem a adição de Ca^{2+} no meio aquoso. Os ensaios foram realizados com três repetições, com análises em triplicata da atividade da PG. A análise da atividade da PG também foi realizada no albedo antes de passar por agitação (tempo 0).

O rendimento e o grau de esterificação da pectina foram avaliados em 1 kg do albedo submetido aos tratamentos com Ca^{2+} (0,01 e 1%) e sem adição de Ca^{2+} (controle). O material foi prensado em malha de tecido sintético para remoção do excesso de água e separado em três lotes, mantidos em temperatura ambiente,

para análise da atividade da PG em três intervalos de tempo: 0, 12 e 24 horas após os tratamentos com Ca^{2+}. Após cada intervalo de tempo, as amostras foram imediatamente desidratadas sobre tela sintética em secador de bandejas (Pardal Tecnologia para Agroindústria, Petrópolis, RJ), com circulação forçada de ar, a 60ºC, por 20 horas, e trituradas em moinho analítico modelo Q298A (Quimis, Diadema, SP) até obter a farinha do albedo com granulometria de 0,297 mm (50 Mesh). A umidade das farinhas foi determinada em estufa, a 105ºC, por 24 horas, de acordo com o método de Helrich (1990).

A extração e o isolamento das pectinas foram realizados com uso do ácido nítrico, como agente extrator, seguindo Scabio et al. (2007) e Fertonani et al. (2009), com modificações. Suspendeu-se 1 g da farinha em 25 mL de água destilada e preparou-se uma solução de ácido nítrico 1 mol L^{-1} de igual volume, para proporcionar uma razão final de suspensão sólido-líquido 1:50 (p/v). Ambos os frascos foram aquecidos até a temperatura de extração, e os conteúdos foram misturados em banho-maria com agitação a 80ºC por 20 min. Após esse período, o processo de extração foi interrompido por imersão do recipiente em banho de água e gelo.

Para o isolamento da pectina solúvel, o resíduo sólido foi separado por filtração em funil e algodão. Ao líquido filtrado, foram adicionados três volumes de etanol a frio (4ºC), e a mistura foi agitada vigorosamente. O material obtido ficou em repouso por 15 horas, para a separação do gel de pectina, e, em seguida, foi centrifugado a 4.520 *g* por 30 min, a 10ºC, e o pellet foi submerso em acetona, por 10 min. O material foi, então, centrifugado novamente a 4.520 *g* por 15 min, a 10ºC, e, posteriormente, mantido em estufa com circulação de ar a 37ºC por 5 horas, tendo sido congelado, liofilizado e pesado. O rendimento de extração da pectina foi calculado a partir da razão entre a massa da pectina desidratada em pó e a massa da farinha desidratada utilizada como matéria-prima, ambas em base seca, tendo sido padronizado para 100 g.

O grau de esterificação do ácido D-galacturônico foi avaliado de acordo com Bochek et al. (2001), com adaptações, por meio da equação: $GE = (K_e/K_t)100$, em que GE é o grau de esterificação da pectina (%); K_e é a quantidade de grupos carboxílicos esterificados (%); e K_t é a quantidade total de grupos carboxílicos livres (K_f) e esterificados (K_e).

Em um béquer, foi pesado 0,2 g de pectina, umedecida com 200 µL de álcool etílico p.a. (95%). Em seguida, foram adicionados 20 mL de água destilada. A solução foi mantida em agitação de 200 rpm e temperatura de 30°C por 24 horas, em agitador orbital (Thermo Forma Inc., Marietta, Ohio, EUA); posteriormente, titulou-se com solução de NaOH 0,1 mol L^{-1} em presença de fenolftaleína. A reação foi determinada até o pH alcançar o valor de 8,5, com potenciômetro modelo 330/SET1 (WTW Wissenschaftlich-Technische Werkstätten GmbH, Weilheim, Alemanha).

O percentual de grupos carboxílicos livres foi determinado a partir da seguinte equação: $K_f\ (\%) = (N_{NaOH} \times V_{NaOH} \times 0{,}045 \times 100) / a$, em que: K_f é a quantidade de grupos carboxílicos livres (%); a é a massa de pectina dissolvida (g); N_{NaOH} é a concentração da solução alcalina (mol L^{-1}); V_{NaOH} é o volume da solução alcalina gasto na titulação (mL); e 0,045 é o peso equivalente do grupo carboxílico.

Para a determinação do número de grupos carboxílicos esterificados, adicionaram-se 10 mL de NaOH 0,1 mol L^{-1} à amostra neutralizada, após a determinação dos grupos carboxílicos livres. O béquer foi tampado e a solução foi agitada por 2 horas a 400 rpm, para a saponificação dos grupos carboxílicos esterificados do polímero. Adicionaram-se 10 mL de HCl 0,1 mol L^{-1} à solução. O excesso de HCl foi titulado com NaOH 0,1 mol L^{-1} até o valor de pH 8,5. A quantidade de grupos carboxílicos esterificados (%) foi determinada de acordo com o procedimento descrito na segunda equação.

Os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado, com três repetições dos tratamentos e análises em triplicatas. Os dados foram submetidos à análise de variância e comparados pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade, com o programa estatístico SAS, versão 9.3 (SAS Institute Inc., Cary, NC, EUA).

Resultados e Discussão

Na análise de cor da casca, constatou-se que os frutos apresentaram 5,04% de coloração amarela (Hunter b = 12,4), com desvio-padrão de 2,83. Os frutos apresentaram-se no estádio de maturação 2, na escala

de cor da casca para sete estádios de maturação do maracujá-amarelo.

O tempo necessário para a inativação da PG presente no extrato enzimático bruto obtido do albedo de maracujá incubado a 65, 75 e 85°C foi de 30, 20 e 10 min, respectivamente (Figura 1). Esses valores foram maiores que os relatados por Bermejo-Prada et al. (2014), que observaram inativação da PG a 70°C por 10 min, em extrato enzimático bruto de abacate (*Persea americana* Mill.), e por Rodrigo et al. (2006), que verificaram inativação da PG a 90°C por 5 min, em extrato enzimático de tomate (*Solanum lycopersicum* L.).

A aplicação do tratamento térmico a 90ºC por 30 min, diretamente no albedo suspenso em água promoveu redução significativa na atividade da PG, em comparação ao albedo controle (tempo 0) que não sofreu nenhum tratamento térmico (Figura 2). O aumento no tempo do tratamento térmico para 120 min reduziu a atividade da PG para 0,55 U mL^{-1}, o que corresponde a uma redução de 44% na atividade inicial da PG em relação ao albedo que não passou por tratamento térmico. Assim, a PG presente no albedo apresenta grande resistência de inativação térmica a 90ºC por 120 min. Entretanto, o tratamento térmico aplicado no extrato enzimático bruto da enzima promoveu inativação da PG em 10 min, a 85ºC.

A enzima é mais resistente ao tratamento térmico do albedo do que o extrato enzimático bruto, em razão de ligantes (substratos ou mesmo inibidores) que aumentam a sua estabilidade, ao ajudá-la a reter a estrutura nativa no sítio ativo ou ao seu redor. Além disso, outros fatores de composição no meio também podem aumentar a estabilidade térmica, como, por exemplo, fibras do tecido do albedo (Damodaran et al., 2010).

O tratamento do homogeneizado de albedo suspenso em solução de cálcio impediu a ação da PG, notadamente na solução de 1% de Ca^{2+} (Figura 3). No tratamento controle (1,85 U mL^{-1}) com água pura, sem adição de cálcio, a atividade da PG aumentou em relação à no albedo in natura (1,25 U mL^{-1}) antes de passar por agitação por 1 hora. Isto pode ser atribuído ao tempo de manutenção do material suspenso em água (1 hora) em temperatura ambiente, sem o tratamento de bloqueio da ação da PG. Silveira et al. (2011), ao tratarem melão

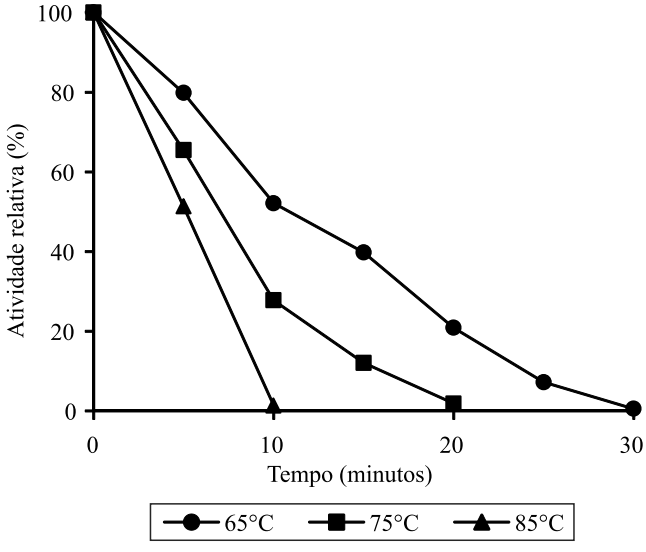

Figura 1. Atividade relativa da poligalacturonase (%) em função do tempo de tratamento térmico do extrato enzimático bruto do albedo de maracujá-amarelo (*Passiflora edulis*), para as temperaturas de 65, 75 e 85°C. Os pontos experimentais representam as médias de três repetições (desvios-padrão inferiores a 0,09). 100% de atividade = 1,1 U mL^{-1}.

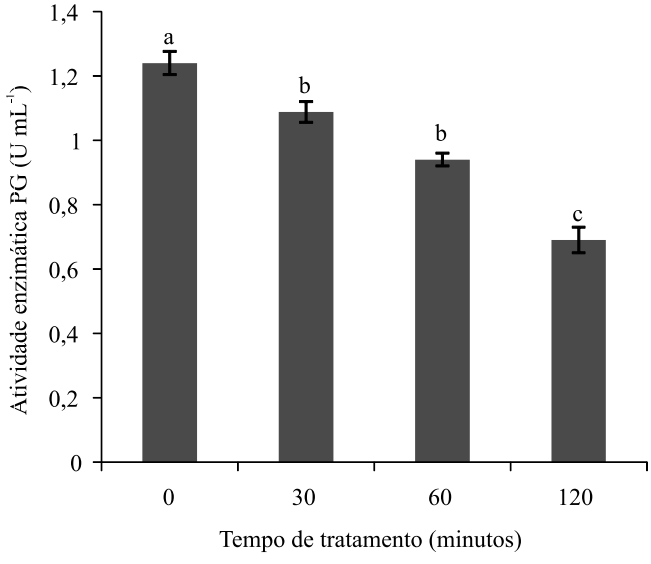

Figura 2. Atividade da poligalacturonase (PG) no albedo de maracujá-amarelo (*Passiflora edulis*) após tratamento térmico a 90ºC, sob agitação constante de 400 rpm, por 0, 30, 60 e 120 min. Médias com letras iguais não diferem pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

(*Cucumis melo* L.) minimamente processado com sais de cálcio, também obtiveram atividade da PG mais elevada no tratamento controle (sem adição de Ca^{2+}), em comparação à atividade inicial avaliada antes dos tratamentos.

A redução na atividade enzimática da PG após os tratamentos com 0,01 e 1% de Ca^{2+} foi de 0,724 e 1,20 U mL^{-1}, respectivamente, o que representa redução de 58,01 e 96,15% na atividade da PG quando comparado aos valores iniciais obtidos no albedo antes de passar por agitação de 1 hora. As medidas em relação ao tratamento controle apresentaram redução de 71,61% (1,32 U mL^{-1}) e 97,40% (1,80 U mL^{-1}) para os tratamentos com Ca^{2+} a 0,01 e 1%, respectivamente. Segundo Silveira et al. (2011), o Ca^{2+} pode se ligar aos grupos carboxílicos livres na molécula de pectina e, desse modo, estabilizar a estrutura da parede celular ao formar pectato de cálcio, o que aumenta a rigidez da parede celular e restringe a ação das PGs. Alonso et al. (1995) obtiveram resultados semelhantes com menores níveis de atividade enzimática em cerejas (*Prunus avium* L.) tratadas com cálcio, em comparação aos frutos controle, em que houve inibição da enzima na concentração de 1%.

Os benefícios do tratamento com Ca^{2+} também foram reportados por Camargo et al. (2000), que determinaram o efeito do $CaCl_2$ sobre a atividade enzimática da PG e da pectina metilesterase (PME) em morangos (*Fragaria ananassa* Duch.). Os autores observaram maior atividade da PG nos frutos controle, quando comparados aos tratados com 2 e 4% de $CaCl_2$. Esses resultados reforçam que a presença de Ca^{2+} pode dificultar o acesso das PGs às cadeias de ácido poligalacturônico, o que inibe a solubilização das pectinas.

As farinhas do albedo de maracujá não apresentaram diferenças significativas no rendimento de extração de pectina durante 24 horas de exposição à temperatura ambiente, após os diferentes tratamentos com cálcio (Tabela 1). No entanto, verificou-se que o rendimento de extração de pectina obtida do albedo tratado com 1% de Ca^{2+} foi significativamente menor do que o do tratamento a 0 e 0,01% de Ca^{2+} em meio aquoso.

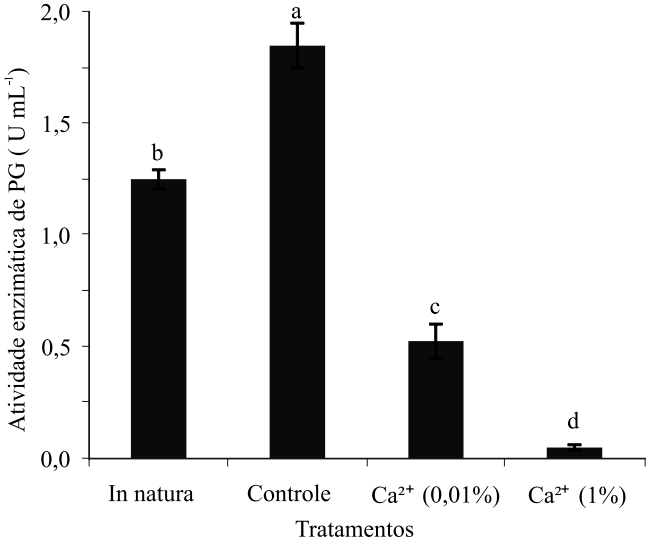

Figura 3. Atividade da poligalacturonase (PG) no albedo de maracujá-amarelo (*Passiflora edulis*) após tratamentos com diferentes concentrações de Ca^{2+} por 1 hora, em temperatura ambiente. O tratamento in natura corresponde às análises antes da agitação de 400 rpm (tempo 0) no tratamento com Ca^{2+}. Controle, suspensão em água por 1 hora. As barras representam médias de cinco repetições. Médias com letras iguais não diferem pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Tabela 1. Caracterização química e rendimento de extração da pectina do albedo da casca de maracujá-amarelo (*Passiflora edulis*), tratado com diferentes concentrações de Ca^{2+} em diferentes intervalos de tempo[(1)].

Concentração de Ca^{2+} (%)	Intervalos de tempo (horas)		
	0	12	24
	Grau de esterificação (%)		
0	43,37±0,2aA	42,57±0,5aA	43,65±1,1aA
0,01	24,46±0,1bA	14,53±0,3bB	16,00±0,1bB
1,0	15,14±0,7cA	15,44±1,3bA	8,97±0,4cB
	Ácidos urônicos livres (%)		
0	14,36±0,25aB	13,92±0,61aB	16,93±0,13bA
0,01	12,45±1,43bC	15,48±0,7aB	22,87±1,17aA
1,0	5,32±0,62cB	6,40±1,15bB	11,56±0,72cA
	Ácidos urônicos esterificados(%)		
0	11,03±0,28aB	10,97±0,47aB	13,36±0,27aA
0,01	4,01±0,43bA	2,34±0,14bB	4,12±0,21bA
1,0	0,94±0,06cA	1,20±0,11cA	1,13±0,13cA
	Rendimento(%)		
0	20,22±0,8aA	20,17±0,4aA	20,13±0,6aA
0,01	19,95±0,8aA	19,31±0,8aA	19,56±0,4aA
1,0	17,05±0,6bA	17,62±0,4bA	17,14±0,7bA

[(1)]Médias seguidas de letras iguais, maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, não diferem pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

O homogeneizado do albedo não submetido ao cálcio (controle) apresentou rendimento de extração de pectina de 20,22% no tempo inicial (0 hora). Yapo & Koffi (2006) e Canteri et al. (2010), respectivamente, obtiveram média similar de 19 e 20,34% em rendimento de extração. Porém, o resultado do presente trabalho é inferior aos encontrados por Oliveira & Resende (2012), que foi de 26,4%, e por Reolon et al. (2009), de 28,5% de rendimento. Estes valores mais altos podem ser atribuídos ao maior tempo de extração, de 40 min, utilizado por esses autores. Liew et al. (2014) afirmam que o aumento no rendimento de pectina com o aumento no tempo de extração ocorre uma vez que tempos mais longos proporcionam maior possibilidade de reação.

O grau de esterificação da pectina reduziu com o aumento nas concentrações de Ca^{2+} usadas no tratamento do albedo homogeneizado (Tabela 1). Nota-se que o grau de esterificação permaneceu constante durante 24 horas de manutenção em temperatura ambiente, com média de 43,20%. No entanto, o material tratado com 1% de Ca^{2+} mostrou redução no grau de esterificação da pectina, tendo alcançado média de 8,87% ao final de 24 horas de manutenção em temperatura ambiente. Alonso et al. (1995), que trataram cerejas em imersão em diferentes concentrações de $CaCl_2$, inicialmente observaram um grau de esterificação de 42,25%, mas, após imersão por 10 min, nas concentrações de 1 e 10 mmol L^{-1}, obtiveram grau de esterificação de 37,35 e 26,86%, respectivamente. Conforme Bem-Arie & Sonego (1980), a redução no grau de esterificação da pectina, ao se adicionar Ca^{2+}, pode ser explicada pelo fato de o Ca^{2+} modular a estrutura e as propriedades da rede de pectinas. Quando altos níveis deste íon se acumulam no apoplasto, ocorrem ligações cruzadas de cálcio com a pectina. Assim, há forte inibição da liberação das pectinas da parede celular e também supressão da atividade da PG (Rose, 2003; Kyomugasho et al., 2015).

A adição de Ca^{2+} a 0,01% provocou pequena redução no conteúdo de ácidos urônicos livres (AUL) no tempo inicial (12,45%), quando comparado ao controle (14,36%); contudo, durante a manutenção do albedo em temperatura ambiente, houve incremento do conteúdo de AUL, o qual chegou a 22,87% ao final de 24 horas, o que sugere que essa concentração estimulou a degradação da pectina (Tabela 1). Pode ocorrer degradação da pectina por β-eliminação, quando há aumento na concentração de álcali e na temperatura ou presença de íons, como o Ca^{2+}, que não estejam na concentração adequada (Canteri et al., 2012).

O tratamento com Ca^{2+} a 1% promoveu redução acentuada de AUL no tempo inicial (5,32%), quando comparado ao controle (14,36%), tendo permanecido com valores baixos no intervalo de 12 horas, o que pode ser atribuído ao efeito da ligação dos íons Ca^{2+} com os grupamentos carboxílicos livres da pectina (Silveira et al., 2011). Entretanto, após 24 horas de permanência do material em temperatura ambiente, houve aumento nos valores de AUL, que chegaram a 11,56%, o que indica atividade residual da PG, com hidrólise da pectina; apesar disso, os valores permaneceram muito inferiores àquele obtido no tratamento controle, que foi de 16,93%.

O conteúdo de ácidos urônicos esterificados (AUE) no tratamento controle permaneceu constante e com altos valores por 12 horas, com incremento mínimo após 24 horas de manutenção do material em temperatura ambiente (Tabela 1).

O tratamento com Ca^{2+} a 0,01 e 1% promoveu redução drástica no conteúdo de AUE, a qual foi mais acentuada na concentração de 1% de Ca^{2+}. Essa redução no conteúdo de AUE em função do tratamento com íons de Ca^{2+} pode ser atribuída ao efeito de bloqueio da molécula de pectina decorrente da formação do pectato de cálcio.

Conclusões

1. O tratamento térmico do albedo da casca de maracujá-amarelo (*Passiflora edulis*) por 120 min, a 90°C, não inativa a enzima poligalacturonase (PG).

2. O tratamento térmico do extrato enzimático bruto obtido do albedo da casca de maracujá promove a inativação da PG em 10 min, a 85°C.

3. O tratamento químico do albedo com solução de 1% de Ca^{2+} por 1 hora inibe a atividade da enzima PG e reduz o conteúdo de ácidos urônicos livres e o grau de esterificação da pectina.

Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (Faperj), pela concessão de bolsa de pesquisa e pelo apoio financeiro.

Referências

ALONSO, J.; RODRIGUEZ, T.; CANET, W. Effect of calcium pretreatments on the texture of frozen cherries. Role of pectinesterase in the changes in the pectin materials. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.43, p.1011-1016, 1995. DOI: 10.1021/jf00052a031.

AYALA-ZAVALA, J.F.; VEGA-VEGA, V.; ROSAS-DOMÍNGUEZ, C.; PALAFOX-CARLOS, H.; VILLA-RODRIGUEZ, J.A.; SIDDIQUI, M.W.; DÁVILA-AVIÑA, J.N.; GONZÁLEZ-AGUILAR, G.A. Agro-industrial potential of exotic fruit byproducts as a source of food additives. **Food Research International**, v.44, p.1866-1874, 2011. DOI: 10.1016/j.foodres.2011.02.021.

BEM-ARIE, R.; SONEGO, L. Pectolytic enzyme activity involved in woolly breakdown of stored peaches. **Phytochemistry**, v.19, p.2553-2555, 1980.

BERMEJO-PRADA, A.; VAN BUGGENHOUT, S.; OTERO, L.; HOUBEN, K.; VAN LOEY, A.; HENDRICKX, M.E. Kinetics of thermal and high-pressure inactivation of avocado polygalacturonase. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v.26, p.51-58, 2014. DOI: 10.1016/j.ifset.2014.05.005.

BOCHEK, A.M.; ZABIVALOVA, N.M.; PETROPAVLOSVSKII, G.A. Determination of the esterification degree of polygalacturonic acid. **Russian Journal of Applied Chemistry**, v.74, p.796-799, 2001.

CAMARGO, Y.R.; LIMA, L.C. de O.; SCALON, S. de P.Q.; SIQUEIRA, A.C. Efeito do cálcio sobre o amadurecimento de morangos (*Fragaria ananassa* Duch.) cv. Campineiro. **Ciência e Agrotecnologia**, v.24, p.968-972, 2000.

CANTERI, M.H.G.; MORENO, L.; WOSIACKI, G.; SCHEER, A. de P. Pectina: da matéria-prima ao produto final. **Polímeros**, v.22, p.149-157, 2012. DOI: 10.1590/S0104-14282012005000024.

CANTERI, M.H.G.; SCHEER, A. de P.; GINIES, C.; RENARD, C.M.-G.C.; WOSIACHI, G. Importância do tratamento térmico na casca de maracujá para extração de pectina. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v.4, p.109-121, 2010. DOI: 10.3895/S1981-36862010000100012.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K.L.; FENNEMA, O.R. **Química de alimentos de Fennema**. 4.ed. Porto Alegre: Artmed, 2010, 900p.

FERTONANI, H.C.R.; SCABIO, A.; CARNEIRO, E.B.B.; SCHEMIN, M.H.C.; NOGUEIRA, A.; WOSIACKI, G. Extraction model of low methoxyl pectin from apple pomace effects of acid concentration and time on the process and the product. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.52, p.177-185, 2009. DOI: 10.1590/S1516-89132009000100023.

HELRICH, K. (Ed.).**Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 15th ed. Arlington: AOAC, 1990. v.2, Method 925.23, 945.46.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Banco de dados agregados. **Sistema IBGE de Recuperação Automática – SIDRA**. [2014]. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/protabl.asp?c=1613&z=t&o=1&i=P>. Acesso em: 30 jan. 2016.

KYOMUGASHO, C.; WILLEMSEN, K.L.D.D.; CHRISTIAENS, S.; VAN LOEY, A.M.; HENDRICKX, M.E. Microscopic evidence for Ca^{2+} mediated pectin-pectin interactions in carrot-based suspensions. **Food Chemistry**, v.188, p.126-136, 2015. DOI: 10.1016/j.foodchem.2015.04.135.

LIEW, S.Q.; CHIN, N.L.; YUSOF, Y.A. Extraction and characterization of pectin from passion fruit peels. **Agriculture and Agricultural Science Procedia**, v.2, p.231-236, 2014. DOI: 10.1016/j.aaspro.2014.11.033.

LÓPEZ-VARGAS, J.H.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J.F.; PÉREZ-ÀLVARES, J.A.; VIUDA-MARTOS, M. Quality characteristics of pork burger added with albedo-fiber powder obtained from yellow passion fruit (*Passiflora edulis* var. flavicarpa) co-products. **Meat Science**, v.97, p.270-276, 2014. DOI: 10.1016/j.meatsci.2014.02.010.

MILLER, G.L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, v.31, p.426-428, 1959. DOI: 10.1021/ac60147a030.

MOTA, W.F. da; SALOMÃO, L.C.C.; PEREIRA, M.C.T.; CECON, P.R. Influência do tratamento pós-colheita com cálcio na conservação de jabuticabas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.24, p.49-52, 2002. DOI: 10.1590/S0100-29452002000100011.

NASCIMENTO, T.A.; CALADO, V.; CARVALHO, C.W.P. Development and characterization of flexible film based on starch and passion fruit mesocarp flour with nanoparticles. **Food Research International**, v.49, p.588-595, 2012. DOI: 10.1016/j.foodres.2012.07.051.

OLIVEIRA, E.M.S. de; RESENDE, E.D. de. Yield of albedo flour and pectin content in the rind of yellow passion fruit. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.32, p.492-498, 2012. DOI: 10.1590/S0101-20612012005000067.

REOLON, C.A.; BRAGA, G.C.; SALIBE, A.B. Características físico-químicas da casca do maracujá amarelo em diferentes estádios de maturação. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, v.27, p.305-312, 2009.

RODRIGO, D.; CORTÉS, C.; CLYNEN, E.; SCHOOFS, L.; VAN LOEY, A.; HENDRICKX, M. Thermal and high-pressure stability of purified polygalacturonase and pectinmethylesterase from four different tomato processing varieties. **Food Research International**, v.39, p.440-448, 2006. DOI: 10.1016/j.foodres.2005.09.007.

ROSE, J.K.C. (Ed.). **The plant cell wall**. Oxford: Blackwell Publishing, 2003. 381p.

SCABIO, A.; FERTONANI, H.C.R.; SCHEMIN, M.H.C.; PETKOWICZ, C.L. de O.; CARNEIRO, E.B.B.; NOGUEIRA, A.; WOSIACKI, G. A model for pectin extraction from apple pomace. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.10, p.259-265, 2007.

SILVA, H.R.F.; RESENDE, E.D. de; PINTO, L.K. de A.; ALMEIDA, R.F. de; MARTINS, M.L.L. Atividade da enzima poligalacturonase em frutos de mamoeiro cv. Golden armazenados

sob refrigeração. **Revista Brasileira de Armazenamento**, v.31, p.187-191, 2006.

SILVA, T.V.; RESENDE, E.D. de; VIANA, A.P.; PEREIRA, S. de M. de F.; CARLOS, L. de A.; VITORAZI, L. Determinação da escala de coloração da casca e do rendimento em suco do maracujá-amarelo em diferentes épocas de colheita. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.30, p.880-884, 2008. DOI: 10.1590/S0100-29452008000400007.

SILVEIRA, A.C.; AGUAYO, E.; CHISARI, M.; ARTÉS, F. Calcium salts and heat treatment for quality retention of fresh-cut 'Galia' melon. **Postharvest Biology and Technology**, v.62, p.77-84, 2011. DOI: 10.1016/j.postharvbio.2011.04.009.

YAPO, B.M.; KOFFI, K.L. Yellow passion fruit rind: a potential source of low-methoxyl pectin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.54, p.2738-2744, 2006. DOI: 10.1021/jf052605q.

Recebido em 27 de outubro de 2015 e aprovado em 14 de março de 2016