

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
CENTRO DE ENERGIA NUCLEAR NA AGRICULTURA

GUILHERME NOVAES PAULINO

Compostagem/biodigestão como estratégia de transformação química:
avaliação das potencialidades de geração de produtos de interesse
químico e agrônômico

Piracicaba

2019

GUILHERME NOVAES PAULINO

Compostagem/biodigestão como estratégia de transformação química:
avaliação das potencialidades de geração de produtos de interesse
químico e agrônômico

Versão revisada de acordo com a Resolução CoPGr 6018 de 2011

Dissertação apresentada ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Área de Concentração: Química na Agricultura e no Ambiente

Orientador: Prof. Dr. Marcos Yassuo Kamogawa

Piracicaba

2019

AUTORIZO A DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Seção Técnica de Biblioteca - CENA/USP

Paulino, Guilherme Novaes

Compostagem/biodigestão como estratégia de transformação química: avaliação das potencialidades de geração de produtos de interesse químico e agrônomo / Guilherme Novaes Paulino; orientador Marcos Yassuo Kamogawa. - - Versão revisada de acordo com a Resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2019.

83 p. : il.

Dissertação (Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Ciências. Área de Concentração: Química na Agricultura e no Ambiente) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2019.

1. Agronegócio 2. Bioprocessos 3. Citricultura 4. Resíduos industriais
5. Resíduos orgânicos 6. Sustentabilidade 7. Tratamento de resíduos I. Título

CDU 628.473.3 + 628.477.2

Elaborada por:

Marília Ribeiro Garcia Henyei

CRB-8/3631

Resolução CFB Nº 184 de 29 de setembro de 2017

À minha família, com amor, admiração e gratidão por, acima de tudo,
sua compreensão, carinho, presença e incansável apoio ao
longo do período de elaboração deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

À minha família, que sempre me apoiou e forneceu suporte para que eu conseguisse alcançar meus objetivos.

Ao Prof. Dr. Marcos, que colaborou para que fosse possível a elaboração deste trabalho.

Aos professores, funcionários e amigos do Laboratório de Química Ambiental do Departamento de Ciências Exatas - Esalq/USP, que se prontificaram a ajudar sempre que necessário.

Ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo – CENA/USP, pela oportunidade de realização do curso de Mestrado.

À Fundação de Estudos Agrários “Luiz de Queiroz” – Fealq, pelo auxílio financeiro.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (Capes), pela concessão da bolsa de mestrado e pelo apoio financeiro para a realização desta pesquisa - Código de Financiamento 001.

"O começo de todas as ciências é o espanto de as coisas serem o que são."

Aristóteles

RESUMO

PAULINO, G. N. **Compostagem/biodigestão como estratégia de transformação química**: avaliação das potencialidades de geração de produtos de interesse químico e agrônomo. 2019. 83 p. Dissertação (Mestrado) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2019.

O Brasil é responsável por mais de 60% das exportações de suco de laranja no mundo, sendo que este setor possui uma participação de geração de resíduo de, aproximadamente, 45% do peso do fruto. Tal fato confere amplo interesse econômico e ambiental deste setor ao país, sendo a destinação final ambientalmente adequada dos resíduos um dos fatores preocupantes neste contexto. Prevista em lei e sob pena de multas e/ou sanções, a elaboração de estratégias de baixo custo e tecnologia aplicada para o tratamento e disposição dos resíduos industriais confere caráter estratégico na gestão ambiental. A correta aplicação da lei, neste contexto, fomenta a indústria a apoiar estudos referentes ao tratamento de seus resíduos, para que seja possível reduzir custos e, quando aplicável, gerar receita. Desta maneira, assegura-se que a sustentabilidade seja alcançada, através de novas tecnologias com eficiência comprovada e, cada vez mais, baixos custos. Este trabalho teve como objetivo otimizar o processo de determinação da pectina proveniente do resíduo da indústria de suco de laranja através da proposição de uma nova metodologia ambientalmente amigável, além de avaliar a utilização do método da compostagem como uma etapa facilitadora para a sua extração. O resultado do estudo para a melhoria de eficiência do processo de extração da pectina trouxe a proposição de uma nova metodologia que reduz em 50% os reagentes e amostras, além de simplificar o processo. No processo de compostagem como etapa facilitadora para a obtenção da pectina, este apresentou baixa eficiência, porém demonstrou que em até quatro dias não ocorre a decomposição da pectina e aos sete dias ocorre uma perda de 21% .

Palavras-chave: Compostagem. Pectina. Resíduo.

ABSTRACT

PAULINO, G. N. **Composting/biodigestion as a strategy of chemical transformation**: evaluation of the potentialities of generating products of chemical and agronomic interest. 2019. 83 p. Dissertação (Mestrado) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2017.

Brazil is responsible for more than 60% of the world's orange juice exports, and this sector has a waste generation share of approximately 45% of the fruit's weight. This condition makes the sector economically and environmentally very concerning to the country, being the final environmental disposal of waste one of the issues in this context. Under the law and under penalty of fines and / or sanctions, the elaboration of strategies of low cost and applied technologies for the treatment and disposal of industrial waste confers a strategic character in the environmental management. The correct application of the law encourages the industry to support studies regarding the treatment of its waste, so that it is possible to reduce costs and, when applicable, generate revenue. In this way, it is ensured that sustainability is achieved through new technologies with proven efficiency and, increasingly, low costs. The objective of this work was to optimize the pectin determination process from the orange juice industry by proposing a new environmentally friendly methodology, as well as to evaluate the use of the composting method as a facilitating step for its extraction. The results of the study to improve the efficiency of the pectin extraction process led to the proposition of a new methodology that reduces reagents and samples by 50%, besides simplifying the process. In the process of composting as a facilitating step to obtain pectin, this showed low efficiency, but demonstrated that in up to four days pectin decomposition does not occur and at seven days a loss of 21% occurs.

Keywords: Composting. Pectin. Residue.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Fluxograma de produção – FCOJ* e NFC**	34
Figura 2: Processo de fabricação de terpeno cítrico e farelo	35
Figura 3: Montagem da leira de compostagem.....	36
Figura 4: Posicionamento do coletor de percolado orgânico.....	37
Figura 5: Destaque – material dentro da leira de compostagem	37
Figura 6: Teste 1: Secagem da amostra por liofilização.....	47
Figura 7: Teste 2: Tempo de exposição ao aquecimento.....	48
Figura 8: Teste 3: Faixa percentual de umidade	49
Figura 9: Teste 4: Secagem passiva	50
Figura 10: Gráfico de valores médio de extração de pectina.....	62

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Principais culturas permanentes e temporárias no Brasil	22
Tabela 2: Geração de resíduos das principais culturas permanentes e temporárias do Brasil.....	23
Tabela 3: Composição percentual da biomassa de citros úmida e desidratada	25
Tabela 4: Quantidade percentual de conteúdo péctico de alguns frutos.	26
Tabela 5: Soluções e reagentes utilizados na determinação de carbono orgânico.	42
Tabela 6: Soluções e reagentes utilizados na determinação de nitrogênio total.....	45
Tabela 7: Variáveis operacionais utilizadas para a extração de pectina da biomassa proveniente do processo de fabricação de suco de laranja.....	46
Tabela 8: Caracterização da biomassa proveniente da indústria de suco de laranja	53
Tabela 9: Teste 1: Massa seca e percentual de umidade inicial das alíquotas.....	54
Tabela 10: Teste 1: Massa seca e percentual de pectina das alíquotas.	55
Tabela 11: Teste 2: Percentual de umidade final das alíquotas. T1 = 24 horas, T2 = 48 horas e T3 = 72 horas, A, B, C são replicatas.....	56
Tabela 12: Teste 2: Massa seca e percentual de pectina nas alíquotas.	57
Tabela 13: Teste 3: Secagem assistida – percentual de umidade.....	59
Tabela 14: Teste 3: Valor percentual de umidade após secagem parcial das alíquotas. Tempo de secagem utilizado entre 2-3 horas e 5-6 horas para atingir, respectivamente, faixas de 60% e 30% de umidade.....	60
Tabela 15: Teste 3: Massa seca e percentual de pectina nas alíquotas.	61
Tabela 16: Teste 4: Percentual de umidade das alíquotas:.....	64
Tabela 17: Teste 4: Massa seca e percentual de pectina nas alíquotas.....	65
Tabela 18: Teste 5a: Massa seca e percentual de pectina das alíquotas.....	67
Tabela 19: Teste 5b: Massa seca e percentual de pectina das alíquotas.....	68
Tabela 20: Teste 6: Curva de titulação.	70
Tabela 21: Teste 6: Volume de água e solução de ácido utilizados.	71

Tabela 22: Teste 6: Massa seca e percentual de pectina nas alíquotas.....	71
Tabela 23: Teste 7: Massa seca e percentual de pectina nas alíquotas.....	72
Tabela 24: Teste 8: Variáveis utilizadas.	73
Tabela 25: Teste 8: Massa seca e percentual de pectina nas alíquotas.....	74
Tabela 1: Concentração de carbono e nitrogênio durante a compostagem.....	75
Tabela 27: Massa seca e percentual de pectina nas alíquotas submetidas ao processo de compostagem.....	76
Tabela 28: Valor de extração da pectina com e sem secagem e correção do pH de amostras submetidas à compostagem.	78
Tabela 29: Principais alterações entre o método convencional e o método proposto para a determinação da pectina proveniente do bagaço da laranja.	80

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	19
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	21
2.1. Agroindústria	21
2.1.1. Importância econômica no Brasil	21
2.1.2. Principais produtos nacionais.....	22
2.1.3. Geração de resíduos na agroindústria	22
2.1.4. Agronegócio citrícola.....	23
3. MATERIAIS E MÉTODOS	33
3.1. Escolha da biomassa.....	33
3.2. Amostra	34
3.3. Procedimentos.....	36
3.3.1. Amostragem e processo de compostagem	36
3.3.2. Determinação do carbono orgânico.....	39
3.3.3. Determinação de nitrogênio total.....	42
3.3.4. Determinação da pectina	45
3.3.5. Determinação da pectina.....	45
3.3.5.1. Determinação da pectina pelo método tradicional.....	45
3.3.5.2. Estudo do preparo da amostra na determinação da pectina.....	46
3.3.5.3. Determinação da pectina pelo método proposto.....	51
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	53
4.1. Caracterização da amostra.....	53
4.2. Estudo das variáveis do preparo da amostra	54
4.3. Estudo das variáveis da extração da pectina.....	67
4.4. Estudos da influência da compostagem na concentração de pectina	75
5. CONCLUSÃO	80
REFERÊNCIAS	81

1. INTRODUÇÃO

A disposição final dos resíduos sólidos provenientes da agroindústria brasileira manifesta grande atenção de caráter ambiental para esta atividade. Tal fato é evidenciado pelo fator residual superior a 50% das principais culturas permanentes e temporárias cultivadas no país.

A definição para resíduos sólidos, de acordo com a Política Nacional de Resíduos Sólidos (PNRS) são todos aqueles provenientes da atividade humana cujas peculiaridades tornem inviável o seu lançamento na rede pública de esgotos ou em corpos d'água, ou exijam, para isso, soluções técnicas ou ambientalmente viáveis.

Os resíduos provenientes do setor agrícola possuem, em sua maioria, caráter orgânico e o alto potencial poluidor destes resíduos é devido à sua elevada carga orgânica, que pode contaminar solo e água quando não devidamente tratado e disposto.

No Brasil, o setor agrícola representou, em 2017, mais de 15% do Produto Interno Bruto (PIB), o que confere, também, elevada importância de caráter econômico e social à esta atividade.

Neste contexto, a busca por tecnologias de baixo custo e eficiência comprovada para o tratamento de resíduos provenientes da agroindústria é constante e de suma importância à este setor, além de ser indispensável para evitar a aplicação de medidas punitivas previstas em lei.

As leis ambientais brasileiras exercem função indispensável na garantia do bem estar e de um ambiente saudável a todos e, fundamentado na Lei 6.938 de 31 de agosto de 1981 que dispõe sobre a Política Nacional do Meio Ambiente (PNMA) e na Lei 12.305 de 02 de agosto de 2010 que institui a Política Nacional de Resíduos Sólidos (PNRS), bem como no Art. 225 da Constituição Federal de 1988, o presente trabalho apresenta um estudo sobre a viabilidade ambiental da utilização de um bioprocessamento ambientalmente amigável e de tecnologia simples aplicável ao processamento dos resíduos gerados pela agroindústria.

Uma das maneiras ambientalmente adequadas para o tratamento de resíduos, apontada pela PNRS, é a compostagem. No processo de compostagem, a biomassa é incorporada e a ação dos microrganismos faz com que ocorra a decomposição deste material, reduzindo o volume do resíduo em até 70%, além de transformar o resíduo num material humificado e com ótimas propriedades agronômicas. Apesar de possuir

eficiência comprovada no tratamento de resíduos orgânicos, alguns compostos químicos de interesse como óleos essenciais, aminoácidos e proteínas dessa biomassa são perdidos durante a compostagem. A possibilidade de empregar a compostagem como uma etapa inicial que facilite a liberação de compostos de interesse torna-se atrativo em tempo de processo, além de ser ambientalmente adequado.

Neste contexto de grande preocupação ambiental e, tendo em vista a importância do setor agrícola do Brasil, este trabalho tem como objetivo utilizar a compostagem como uma estratégia de transformação química dos resíduos orgânicos provenientes da citricultura, de modo a utilizar a técnica de compostagem como etapa facilitadora para a extração de pectina do albedo da laranja, material de interesse químico e agrônômico, agregando valor aos seus subprodutos.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Agroindústria

2.1.1. Importância econômica no Brasil

A agroindústria possui grande participação no Produto Interno Bruto (PIB) brasileiro, sendo determinante para o crescimento do país. No primeiro trimestre de 2018, foi registrada uma alta de 0,4% no PIB brasileiro, impulsionado pelo avanço de 1,4% no setor da agropecuária ^{1,2}. O setor de maior importância na agroindústria é o de produção de alimentos, tanto no que se diz respeito ao tamanho de produção, quanto na geração de emprego e do número de indústrias ³.

De acordo com a Pesquisa Industrial Anual (PIA), a atividade que concentra o maior número de pessoas ocupadas no país, apesar da queda de 1,6% entre 2009/2008 e 2015/2014, é a de fabricação de produtos alimentícios, com 1,7 milhão de pessoas ocupadas em 2016 ⁴.

A fabricação de produtos alimentícios ganha destaque entre as atividades industriais no valor da transformação industrial, ocupando primeiro lugar no ranking, em 2016, seguida pela fabricação de coque, de produtos e derivados do petróleo e de biocombustíveis; fabricação de produtos químicos; extração de petróleo e gás natural e; fabricação de veículos automotores, reboques e carrocerias ⁴.

A agropecuária ocupou o quarto lugar na participação do PIB brasileiro em 2017 ⁵, sendo que a atividade de fabricação de produtos alimentícios é considerada a primeira atividade com valor de transformação industrial em quatro das cinco grandes regiões brasileiras, excetuando-se, apenas, o norte ⁴.

A importância do agronegócio brasileiro é reafirmada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA ⁶, quando apresenta os dados das exportações, no decorrer dos anos, no país. Em abril de 2018, o setor compreendeu cerca de 40% das exportações totais do Brasil, o que assegurou superávit na balança comercial.

O Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada (Cepea) ¹⁰, em sua análise anual da participação no produto interno bruto (PIB) do agronegócio brasileiro, confirmou a importância do setor agrícola no país. A análise apontou para uma participação de 21,6% do agronegócio no PIB nacional em 2017, sendo composta pelo ramo agrícola e pecuário em 15% e 6,6%, respectivamente. Vale salientar, neste aspecto, a importância econômica do setor agrícola ao Brasil.

2.1.2. Principais produtos nacionais

O Brasil vem conquistando espaço como um dos principais fornecedores mundial de alimentos, e esta participação tende a continuar crescendo. Esse crescimento implica em benefícios ao país, como a geração de empregos, maior produção de alimentos e riqueza; entretanto, também apresenta alguns impactos ao meio ambiente, como a geração de resíduos e seu gerenciamento ⁹.

O Levantamento Sistemático da Produção Agrícola – LSPA (2017) ⁷, selecionou as 26 principais culturas do agronegócio brasileiro. Dentre eles, a laranja, cana de açúcar e café, culturas que, apesar de apresentarem variação negativa na estimativa de produção em relação a 2017-2016, garantem ao Brasil o primeiro lugar na produção mundial.

As quatro principais culturas permanentes cultivadas no Brasil e suas respectivas representações percentuais – referentes à área total plantada – seguem expostas na Tabela 1.

Tabela 1: Principais culturas permanentes e temporárias no Brasil

Rank	Cultura permanente	Representação (%)	Cultura temporária	Representação (%)
1	Café	33,12	Soja	36,67
2	Laranja	12,76	Milho	23,84
3	Castanha-de-cajú	12,32	Cana-de-açúcar	14,76
4	Cacau	10,69	Feijão	7,21

Fonte: ⁹ Adaptado.

2.1.3. Geração de resíduos na agroindústria

A geração de resíduos na agroindústria, provenientes das quatro principais culturas brasileiras, permanentes e temporárias, está representada na Tabela 2.

Tabela 2: Geração de resíduos das principais culturas permanentes e temporárias do Brasil

Cultura	Tipo de cultura	Produção total colhida (milhões de t)	Fator residual (%)	Resíduos (milhões de t)
Café	Permanente	2,44	50	1,22
Laranja	Permanente	18,39	50	9,20
Castanha-de-caju	Permanente	0,11	73	0,08
Cacau	Permanente	0,22	38	0,08
Soja	Temporária	57,34	73	41,86
Milho	Temporária	50,74	58	29,43
Cana-de-açúcar	Temporária	671,39	30	201,42
Feijão	Temporária	3,49	53	1,85
Total	-	804,12		285,14

Fonte: ⁹ Adaptado

Analisando os valores da Tabela 2, pode-se notar que, apesar de não possuírem o maior fator residual, o montante de resíduos gerados pela laranja e pela cana-de-açúcar é, respectivamente, para os tipos de cultura permanente e temporária, o mais representativo. Neste contexto, nota-se um grande apelo econômico e ambiental para o Brasil, decorrentes da correta destinação final dos resíduos gerados por estes tipos de cultura.

O alto potencial poluidor destes resíduos em seu processo de decomposição é devido à alta carga orgânica, na faixa de 4.000 kg/dia de DBO (Demanda Bioquímica de Oxigênio). Durante a sua decomposição, o resíduo orgânico produz um líquido, denominado como percolado orgânico que, ao entrar em contato com o meio hídrico, compete com as demais formas de vida existentes, consumindo o oxigênio disponível²⁷.

2.1.4. Agronegócio citrícola

Conforme observado, o agronegócio citrícola apresenta grande interesse, tanto no viés econômico, quanto no ambiental, ao país. Este segmento é responsável pela maior geração de resíduos provenientes de culturas permanentes no país, com geração estimada de 9 milhões de toneladas em 2009 ⁹. Também é responsável pela geração de emprego e renda, conferindo importância de caráter social ao setor.

Em 2017, 45.009 novos postos de trabalho foram criados entre janeiro e setembro, e cerca de 200 mil empregos diretos e indiretos são ofertados em todos os

elos de sua cadeia. Outro fator que indica a importância no agronegócio citrícola são os elevados Índices de Desenvolvimento Humano (IDH) que as cidades citrícolas apresentam: os melhores do ranking nacional, cujas cidades possuem faculdades e universidades além de bons índices de saúde, educação, e qualidade de vida ¹⁶. É válido ressaltar, ainda, que a produção de suco de laranja possui apenas dois grandes polos mundiais, localizados no estado de São Paulo, no Brasil e no estado da Flórida, nos Estados Unidos ¹⁷.

A produção de laranjas no Brasil, apesar de ter apresentado uma variação negativa entre as safras do período de 1996 a 2015, mantém-se líder mundial, com cerca de 54% da produção mundial de laranja para industrialização. Em contrapartida, neste mesmo período, a produção de laranja para consumo de mesa aumentou em 25%, conferindo ao Brasil mais de 20% desta produção mundial ¹⁷.

A produção nacional de laranja, em 2017, ficou concentrada na região sudeste, com cerca de 80% de toda a produção do país. A produção total do Brasil, neste ano, foi de 17,46 milhões de toneladas, sendo que o estado de São Paulo foi responsável por 76% deste montante ¹⁹.

Além de o Brasil deter mais da metade da produção mundial do suco de laranja, exporta aproximadamente 98% de sua produção, o que confere ao país a posse de três em cada cinco copos de suco consumidos no mundo ¹⁸. Em 2009, o país foi responsável por 56% da produção mundial de suco de laranja e 85% da exportação deste produto.

Os resíduos gerados pelo processamento de laranja para produção de sucos representam 45% do peso do fruto ²⁰. Este resíduo, cuja geração no estado de São Paulo é estimada em 6,3 milhões de toneladas por ano, é constituído, majoritariamente, de casca, semente e polpa ²¹.

A composição desta biomassa é apresentada na Tabela 3.

Tabela 3: Composição percentual da biomassa de citros úmida e desidratada

Composição	Biomassa Úmida (%)	Biomassa Desidratada (%)
Água	76-82	-
Açúcares simples	5-8	31
Pectina	3-5	19
Celulose	2-3	12
Hemiceluloses	2-3	12
Flavonóides	1-2	7
Ácidos orgânicos	1	4.8
Proteína	1	4.8
Cinzas	1	4.8
Óleo	1	4.8

Fonte: ²¹. Adaptado.

A disposição de resíduos alimentícios conduzem a problemas ambientais e econômicos devido à sua alta fermentação, sendo necessária o devido tratamento do mesmo. O resíduo de citros, por exemplo, é citado como importante fonte de combustíveis renováveis ²².

Os subprodutos da indústria processadora de suco de laranja possuem elevado valor comercial. O resíduo proveniente deste setor é comumente utilizado para a produção de farelo de polpa cítrica peletizado; produção de óleos essenciais; produção do limoneno e; a produção da pectina, entre outros ²³.

A produção de farelo de polpa cítrica peletizado, também conhecido como farelo de casca cítrica, é feito através da desidratação do resíduo da indústria de suco. A biomassa, composta pela casca, semente e polpa da laranja, possui umidade em torno de 80%. Após o processo de industrialização, a polpa é triturada e desidratada até umidade inferior a 12%, sendo, posteriormente, peletizada. Este produto é utilizado como complementação na ração animal, com restrição de, no máximo, 30% (massa seca) em sua composição ²⁴.

Os óleos essenciais são extraídos pela técnica de arraste a vapor ou prensagem do pericarpo (casca) de citros ²⁵. O óleo essencial de laranja brasileiro desponta como líder de exportação para a União Europeia (UE) que, em 2004, importou US\$62 milhões deste produto, do qual 38% são brasileiros.

Possuem aplicação na indústria farmacêutica e alimentícia, podendo ser utilizados para dar sabor em bebidas e alimentos bem como na fabricação de medicamentos e cosméticos ²⁴.

Os óleos essenciais estão presentes na composição de citros nas quantidades percentuais equivalentes a 1% e 4,8%, respectivamente, da biomassa cítrica úmida e desidratada ²¹.

Trata-se de um monoterpene cíclico (C₁₀H₁₆). Está presente nos óleos essenciais na forma de d-limoneno e l-limoneno, possui atividade antimicrobiana e é utilizada no viés medicinal, porém tem suas propriedades perdidas como matéria-prima. Suas principais aplicações são como produtos de limpeza e solvente ²⁵.

A pectina refere-se a uma família de oligossacarídeos e polissacarídeos. É constituída de, no mínimo, 65% de ácido galacturônico ²⁶, sendo sua determinação amplamente feita através deste substrato.

A pectina é uma substância geleificante, amplamente utilizada pela indústria alimentícia e sua produção industrial compreende a extração em meio aquoso ácido com aquecimento, purificação do extrato e isolamento da pectina por precipitação. Este procedimento é amplamente utilizado para a obtenção de pectinas a partir de resíduos da indústria de suco ²⁶.

As fontes com maior teor de pectina são: bagaço de maçã, albedo cítrico, polpa de beterraba e capítulos de girassol.

A Tabela 4 apresenta a quantidade de conteúdo péctico de alguns frutos.

Tabela 4: Quantidade percentual de conteúdo péctico de alguns materiais

Fruto	% em MF	% em MS
Maçã	0,5-1,6	4-7
Bagaço de maçã	1,5-2,5	15-20
Albedo cítrico	-	30-35
Casca de laranja	3,5-5,5	-
Beterraba	1	-
Bagaço de beterraba	-	15-20
Cenoura	0,2-0,5	10
Maracujá	0,5	-
Casca de maracujá	2,1-3,0	-
Polpa de limão	2,5-4,0	-

Fonte: ²⁶. MF = massa fresca; MS = Massa seca.

Dentre as aplicações da pectina, no setor industrial, promove aumento da viscosidade e funcionam como estabilizante e protetor de alimentos e bebidas. Quanto aos efeitos farmacológicos, apresenta implicações benéficas no equilíbrio hídrico e motilidade intestinal, além de possuir efeitos prebióticos. Outras propriedades que podem ser destacadas são: a redução do colesterol, o aumento da excreção e a redução da reabsorção de ácidos biliares, a redução do peso corporal e a ligação à metais e microrganismos tóxicos no cólon, impedindo a reabsorção das toxinas produzidas por estes²⁶.

Os resíduos de frutas cítricas podem ser transformados em subprodutos através de processos de alta tecnologia ou recursos avançados, o que muitas vezes pode tornar o seu tratamento e recuperação economicamente inviável. A extração da pectina do albedo cítrico, por exemplo, requer o ataque ácido e aquecimento do material previamente seco. Neste sentido, um processo de transformação tecnologicamente simples, de baixo custo e ambientalmente adequado é de amplo interesse.

Neste contexto, a destinação dos resíduos de setor de processamento de frutos cítricos é necessária para garantir a correta aplicação da PNRS. Não apenas para o cumprimento da Lei 12.305/10, que institui a PNRS, a importância deste enquadramento para a indústria é decorrente do licenciamento ambiental. Sem a licença ambiental, que é uma importante ferramenta da Política Nacional de Meio Ambiente (PNMA) (Lei 6.938/81), a qual busca o controle das atividades humanas que interferem nas condições ambientais, a indústria fica vetada de exercer suas atividades, sob a pena de multa e embargo de sua planta.

Outro questionamento deve ser feito em relação à utilização de fertilizantes. O Brasil importa cerca de 70% das matérias primas utilizadas na fabricação dos fertilizantes que são utilizados nas lavouras. Vale ressaltar a importância da utilização deste produto para a biodisponibilização de macronutrientes para as plantas, como o nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg) e enxofre (S), além de micronutrientes, tais como manganês (Mn), zinco (Zn), cobre (Cu), ferro (Fe), molibdênio (Mo), boro (B) e cloro (Cl) ⁹.

É válido ressaltar que o reaproveitamento da biomassa proveniente da agroindústria retoma teores consideráveis de macro e micronutrientes ao sistema, o que valida a possibilidade de reaproveitamento deste resíduo para o próprio setor da

agroindústria, desde que tratado adequadamente através de um processo com eficiência comprovada.

A Lei 12.305/2010, que institui a Política Nacional de Resíduos Sólidos (PNRS), define como destinação final ambientalmente adequada a

“destinação de resíduos que inclui a reutilização, a reciclagem, a compostagem, a recuperação e o aproveitamento energético ou outras destinações admitidas pelos órgãos competentes do Sisnama, do SNVS e do Suasa, entre elas a disposição final, observando normas operacionais específicas de modo a evitar danos ou riscos à saúde pública e à segurança e a minimizar os impactos ambientais adversos”.

A partir da definição da PNRS e com enfoque em tratamentos de baixo custo e tecnologia, tem-se a compostagem, dentre outras maneiras ambientalmente adequadas para o correto tratamento dos resíduos orgânicos, como uma alternativa altamente viável para tal fim. Além de conferir aspectos positivos às questões sociais, ambientais e econômicas, este bioprocessos está claramente definido na legislação como destinação final ambientalmente adequada.

A compostagem é um processo de transformação aeróbica da biomassa vegetal e/ou animal em um material estabilizado (humificado), através da ação de microrganismos, sob condições controladas de alguns fatores, como aeração, temperatura, umidade, microrganismos, relação C/N, e tamanho das partículas¹². Trata-se de um processo biotecnológico em meio aeróbico controlado para o benefício humano ²⁷.

Abaixo os fatores de maior influência no processo de compostagem serão detalhados:

i) Aeração

Para que a matéria orgânica possa ser decomposta através do processo de compostagem, é necessário criar um ambiente em presença de oxigênio, uma vez tratar-se de um processo aeróbio. A presença de odor produzido no processo aeróbio, bem como menor tempo para a obtenção de um substrato, além de diferenças de pH

do mesmo, temperatura desenvolvida e a forma como a decomposição é obtida são características que diferem a decomposição da matéria orgânica através de um meio aeróbio, de um anaeróbio ²⁸.

A aeração é o principal mecanismo capaz de evitar altos índices de temperatura durante o processo de compostagem, de aumentar a velocidade de oxidação, de diminuir a liberação de odores e também o excesso de umidade do material em decomposição.

Concentrações acima de 10% de oxigênio são consideradas ótimas para a manutenção da compostagem em condições de aerobiose, mas é necessário atentar para que o calor retirado pela aeração não seja mais intensa que o calor produzido pelos microrganismos.

ii) Temperatura

A temperatura é um indicador da eficiência do processo de compostagem, que indica a taxa de decomposição e a fase de maturação do composto. É afetada pela aeração, umidade, relação C/N e tamanho da leira, portanto, não pode ser utilizada como único parâmetro para indicar o término do processo de compostagem.

À medida que o estoque de carbono é exaurido, a temperatura decai gradualmente, onde as comunidades mesófilas serão responsáveis pela humificação do composto através da degradação de compostos de mais difícil decomposição, como a celulose, hemicelulose e lignina.

iii) Umidade

Faixas de umidade entre 40% e 60% (m/m) são consideradas ótimas para o processo de compostagem. Abaixo desta faixa, a degradação da matéria orgânica ocorrerá, porém de forma menos eficiente, necessitando maior tempo para a maturação do composto. Em contrapartida, teores de umidade acima de 60% conferem caráter anaeróbio ao processo, podendo, além de produzir odores, ocorrer a lixiviação de nutrientes ²⁸.

Uma vez a saturação dos macro e microporos, a água se adere à matéria orgânica, que é hidrófila, impossibilitando a oxigenação ³⁰, afetando as propriedades do composto. A umidade interfere também indiretamente na temperatura do processo de compostagem, que é uma consequência da atividade metabólica dos microrganismos, a qual ocorre na fase aquosa.

O bagaço de laranja apresenta umidade de 80%, o que acarreta na necessidade da aplicação de material seco ou maior esforço quanto à aeração e revolvimento da leira de compostagem.

iv) Microrganismos

A transformação do resíduo num material estabilizado é resultado da ação dos microrganismos através de uma etapa física (desintegração) e outra química (decomposição)¹². Ocorre, durante o processo da compostagem, uma contínua mudança das espécies de microrganismos devido às modificações nas condições do meio. Estas mudanças são importantes para o conhecimento da ciclagem dos nutrientes e da dinâmica da matéria orgânica e está relacionada à diversificação e à concentração dos nutrientes, que são decompostos em diferentes estágios, intensidades e populações de microrganismos, que possuem característica exotérmica, liberando durante o processo CO₂ (respiração), vapor d'água e calor ¹³.

Através da liberação de calor, advinda do metabolismo dos microrganismos, as leiras de compostagem chegam a atingir temperaturas superiores à 70°C, o que confere ao processo caráter fitossanitário. Como o metabolismo dos microrganismos é exotérmico, parte do calor gerado, durante a oxidação da matéria orgânica, acumula-se no interior da leira ¹⁴, elevando a temperatura. A umificação reduz a ocorrência de efeitos inibitórios ou fitotóxicos¹⁵.

Estes fatores permitem o desenvolvimento de calor de origem biológica e a obtenção de um produto final estável, sanitizado e rico em compostos húmicos com ampla aplicabilidade como fonte de nutrientes e condicionador de solo em processos agrícolas. Esses fatores são essenciais para a eficiência do processo de compostagem, devendo procurar a faixa ótima adequada a cada resíduo a ser compostado.

v) Relação C/N

A relação C/N (Carbono/Nitrogênio) é um índice utilizado para avaliar os níveis de maturação do composto e os efeitos no crescimento microbiológico, onde o C serve como fonte de energia e o N para a síntese proteica para os microrganismos. Está diretamente relacionada com o tempo para a maturação do composto, onde maiores valores de relação C/N acarretam em maior tempo de maturação devido ao maior tempo necessário para a umificação da matéria orgânica.¹³

A relação inicial da relação C/N ideal encontrada na bibliografia compreende uma faixa de 25/1 e 35/1, devido ao metabolismo dos microrganismos absorverem C e N da matéria orgânica na relação 30/1, onde 20 partes são eliminadas na atmosfera na forma de CO₂ e 10 partes são imobilizadas e incorporadas ao protoplasma celular¹³.

O valor ideal para esta relação, no início do processo de compostagem varia conforme o material, microrganismos e com o método de compostagem utilizados. Vale ressaltar que para esta relação, é necessário verificar a biodisponibilidade do carbono, uma vez este possuir difícil degradação em alguns materiais, como, por exemplo, a lignina, celulose e hemicelulose. Para estes materiais, aconselha-se aumentar o valor da relação C/N, pois o C biodisponível é menor que o C total¹³.

A composição do bagaço de laranja compreende 127,8 g/Kg de carbono 7,1 g/Kg de nitrogênio, o que confere à este material uma relação C/N equivalente à 18/1²⁸.

vi) Tamanho das partículas

A atividade bioquímica é influenciada pelo tamanho das partículas devido à área de contato entre o material orgânico e os microrganismos: quanto menor o tamanho das partículas, maior será a área de contato²⁷. Porém é necessário atentar para que não ocorram condições de compactação e, conseqüentemente, anaerobiose. Não fossem esses fatores, dimensões microscópicas seriam as mais adequadas para o processo de compostagem¹³.

O aumento da densidade da fração putrescível está relacionado à elevada taxa de umidade e à baixa granulometria dos resíduos. Com o aumento da densidade pode ocorrer uma dificuldade de distribuição dos microrganismos e, como consequência, de suas enzimas e outros metabólitos microbianos, diminuindo a eficiência do processo ¹³.

A granulometria das partículas influi em alguns parâmetros como: na aeração, umidade, compactação e temperatura. Quanto menores as partículas, maior será a capacidade de retenção de líquido²⁸. Partículas com dimensões maiores, conhecidas como material estruturante, como aparas de madeira, ajudam a manter a aeração da leira, mas fornecem menos Carbono disponível por massa de material devido ao seu alto teor de lignina e baixa umidade, afetando a atividade dos microrganismos¹³.

vii) Compostos inibidores

Além dos fatores já mencionados, há ainda a necessidade de conhecer a natureza do material a ser compostado. Os compostos inibidores são quaisquer compostos que afetam os processos biológicos, impedindo ou retardando as reações. Podem ocorrer devido à presença de metais pesados ou altas concentrações de elementos que não possuem natureza tóxica, mas que podem sofrer alterações em sua estrutura química ³⁰.

O bagaço cítrico apresenta, em sua constituição, concentração de 1% de óleos essenciais na biomassa úmida e 4,8% na biomassa desidratada. Apesar de possuir baixa concentração, é de suma importância avaliar a influência desse componente, uma vez possuir característica antimicrobiana ²¹.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

De forma a elucidar a potencialidade dos bioprocessos e justificar a execução deste trabalho, foi selecionada a biomassa proveniente da fabricação de suco de laranja, cujo tratamento representa um grande apelo no viés econômico e ambiental ao Brasil, dada a importância do processo industrial gerador deste resíduo no mercado interno.

A compostagem foi o método de tratamento proposto, baseado nas premissas da PNRS, com enfoque num processo de alta eficiência para o tratamento de resíduos orgânicos e que apresente baixo custo e aplicação tecnológica. Além de ser um processo com eficiência comprovada para o tratamento de resíduos orgânicos, a compostagem é citada diretamente na PNRS como maneira ambientalmente adequada para o tratamento de resíduos deste caráter.

O objetivo deste trabalho é aumentar a eficiência de extração da pectina através do estudo dos fatores de maior influência durante as etapas de preparo da amostra e de extração da pectina.

A hipótese levantada é que a digestão microbológica realize alterações químicas e/ou estruturais no material de estudo, sendo aplicada como uma etapa facilitadora para a obtenção da pectina proveniente do bagaço da laranja, sem que seja necessária a utilização de reagentes químicos comumente utilizados no processo convencional de extração deste subproduto.

3.1. Escolha da biomassa

Foi selecionada a indústria de suco de laranja baseado no fato desta representar o setor da agroindústria de maior importância quanto ao tamanho de produção e geração de emprego e renda no Brasil ³. O agronegócio citrícola impacta diretamente em 350 municípios do estado de São Paulo e triângulo mineiro, principalmente no período em que se inicia a safra, criando mais de 45 mil postos de trabalho e movimentando um Produto Interno Bruto (PIB) de U\$ 6,5 bilhões em toda a sua cadeia produtiva, em 2017 ¹⁶.

O fator residual da laranja é de aproximadamente 45% (m/m) da fruta ⁹, sendo gerados, apenas no estado de São Paulo, mais de 6 milhões de toneladas no ano de 2009. Composto por substâncias de interesse químico e agrônômico, como a pectina

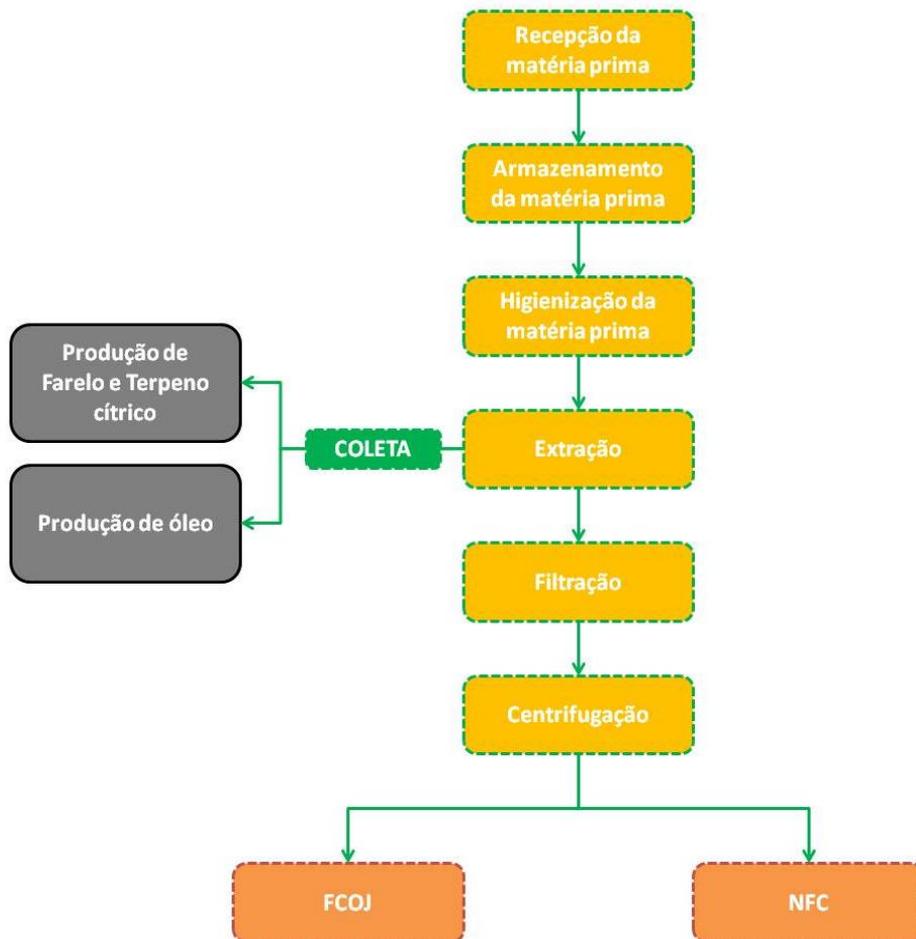
e o terpeno cítrico, entre outros, o resíduo proveniente da citricultura brasileira confere interesse de caráter econômico à sua recuperação.

Outro fator considerado para a escolha da fonte de biomassa foi o alto potencial poluidor que os resíduos orgânicos apresentam devido à elevada carga orgânica liberada pelos mesmos ²⁷, o que os enquadram, de acordo com a PNRS, como um resíduo sólido, tornando seu tratamento e disposição final ambientalmente adequado necessários ^{18, 20}.

3.2. Amostra

A amostra selecionada para este trabalho foi a biomassa proveniente do processo de fabricação de suco de laranja. A amostra foi coletada após a etapa de extração do suco e toda a cadeia produtiva desta atividade está descrita, resumidamente, conforme fluxograma na Figura 1:

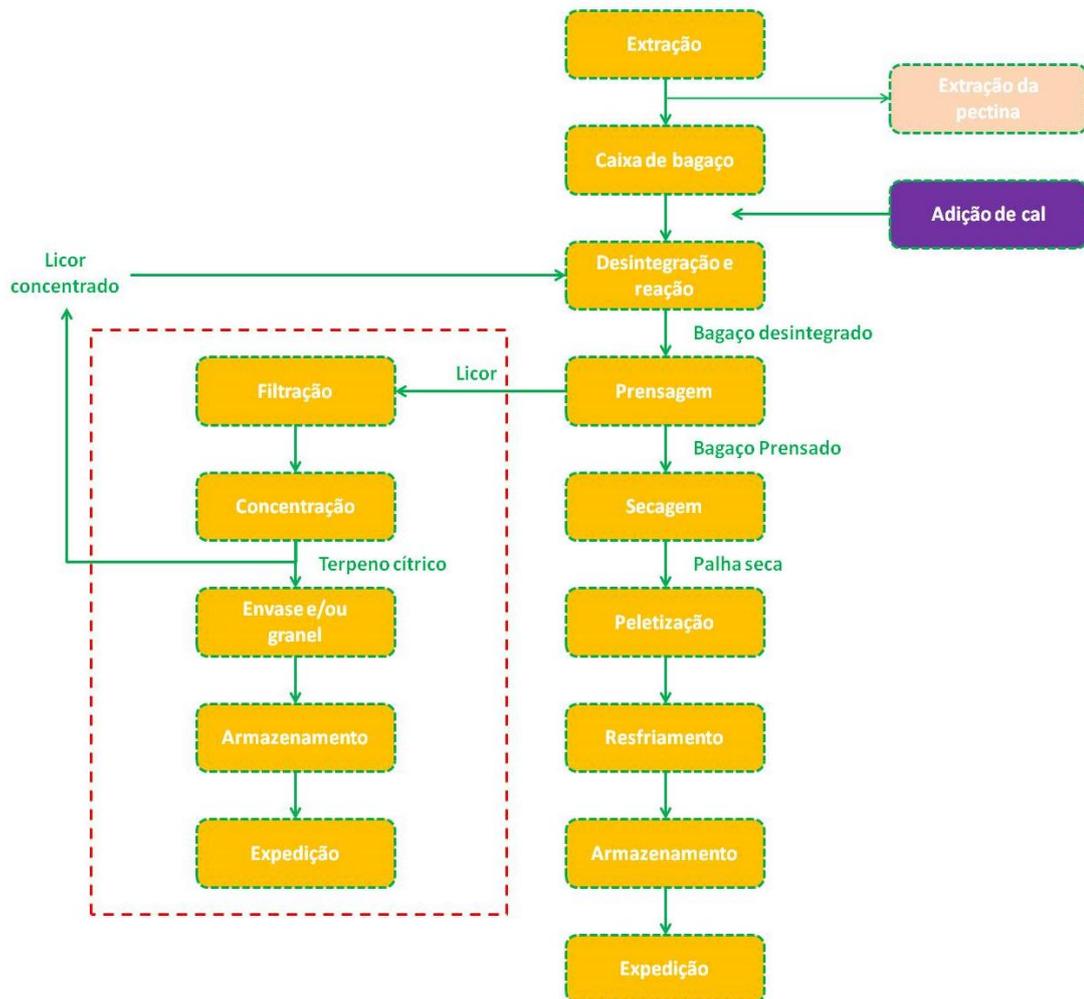
Figura 1: Fluxograma de produção – FCOJ* e NFC**



*FCOJ: Suco concentrado **NFC: Suco integral.

Após a etapa de extração, o resíduo gerado por este setor da agroindústria é encaminhado para uma caixa de bagaço e, posteriormente, é utilizado para a produção do farelo e terpeno cítrico. Este resíduo é composto pelo bagaço, sementes, casca e polpa da laranja. O processo de fabricação do terpeno cítrico e do farelo é uma complementação da Figura 1 e está exposto na Figura 2.

Figura 2: Processo de fabricação de terpeno cítrico e farelo



Fonte: Sucocítrico Cutrale Ltda. Adaptado.

A amostra utilizada neste trabalho foi coletada da esteira que transporta a biomassa excedente da produção de suco para a caixa de bagaço, antes do seu processamento para a produção do terpeno cítrico e do farelo (Figura 2).

3.3. Procedimentos

3.3.1. Amostragem e processo de compostagem

A coleta de uma tonelada de biomassa proveniente da produção de suco de laranja foi realizada na empresa Sucocítrico Cutrale Ltda., localizada no município de Araraquara-SP. O material foi depositado num caminhão sem refrigeração e transportado até a Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, localizada no município de Piracicaba.

O local utilizado para a montagem da leira de compostagem foi cedido pelo grupo Centro de pesquisa para reaproveitamento de resíduos agroindustriais - CEPARA. O solo do local fora previamente impermeabilizado por compactação e utilização de lona, evitando a infiltração do percolato orgânico e permitindo a sua coleta, por escoamento.

A biomassa foi depositada sob uma manta plástica e a montagem da leira de compostagem foi realizada com o auxílio de uma pá, enxada e carriola, conforme Figuras 3, 4 e 5.

Figura 3: Montagem da leira de compostagem



Figura 4: Posicionamento do coletor de percolado orgânico



Figura 5: Destaque - material dentro da leira de compostagem



Para a montagem da leira, fora adicionado cavaco de madeira com aproximadamente 3 cm³ de volume como material estruturante, garantindo maior porosidade ao meio, uma vez se tratar de um material com elevada umidade e fácil compactação. A escolha do cavaco de madeira como material estruturante foi devido à baixa biodisponibilidade do carbono para o processo, conferindo menor influência na decomposição do material de interesse.

A relação de material estruturante utilizado respeitou o limite máximo de 20% (v/v) do volume total da leira. A leira teve dimensionamento de 3 x 2 x 2 metros, aproximadamente.

O método de compostagem utilizado foi o da leira estática com aeração passiva e revolvimento manual. O monitoramento de processo foi realizado através de alguns parâmetros como temperatura e umidade, além do acompanhamento da relação C/N através da análise de carbono e da análise de nitrogênio. A análise da pectina também foi realizada de modo a verificar se o processo de compostagem auxiliaria a extração deste subproduto. Foi coletado cerca de 100 g do material compostado através de amostragem composta, em datas distintas, durante todo o processo de compostagem, num período de três meses. A coleta foi realizada de forma a avaliar o teor de pectina contido naqueles períodos, bem como o grau de maturação do composto, através da relação C/N, obtida através da determinação de carbono e nitrogênio das amostras.

As amostras coletadas foram armazenadas em freezer -80°C para que a atividade microbiológica fosse interrompida. Para a realização das análises de carbono e nitrogênio, as amostras foram secas à 60°C em estufa sem aeração até massa constante. Posteriormente à secagem, as amostras foram moídas, peneiradas e armazenadas em frascos de vidro de 100 mL devidamente identificados, tampados e acondicionados em dessecador.

O monitoramento da temperatura foi realizado através da utilização de um termômetro TH 090 da Instrutherm empregando uma sonda do tipo termopar, modelo MTK 16, durante todo o processo de compostagem, sendo possível verificar temperaturas de até 55°C, o que confere eficiência ao processo.

Umidade

A umidade da leira foi verificada através da diferença de massa obtida antes e depois da secagem do material. Num cadinho de porcelana previamente pesado (tara), uma quantidade de amostra foi adicionada, pesada (P1) e seca em estufa sem aeração à 60°C até massa constante (P2). O cálculo da umidade da amostra é dado pela equação 1:

$$U(\%) = \left(\frac{MU-MS}{MU} \right) \times 100 \quad (1)$$

Onde,

U (%) é o percentual de umidade

MU é a massa úmida

MS é a massa seca

A massa úmida e a massa seca são calculadas através das equações 2 e 3.

$$MU = P1 - Tara \quad (2)$$

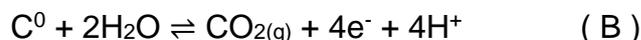
$$MS = P2 - tara \quad (3)$$

3.3.2. Determinação do carbono orgânico

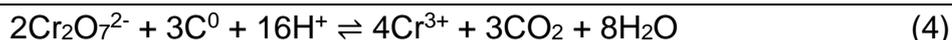
A determinação do carbono orgânico foi realizada através de uma metodologia que consiste na oxidação do carbono orgânico por via úmida pela adição de dicromato de potássio em presença de ácido sulfúrico e aquecimento externo³².

A amostra seca e moída é pesada num erlenmeyer de 250 mL e, a ela, são adicionados 20 mL de uma solução de dicromato de potássio 0,33 mol.L⁻¹. A solução é colocada sob agitação em banho de gelo e, lentamente, são adicionados 26 mL de ácido sulfúrico concentrado. A equação da reação envolvida é descrita a seguir.

Equação 4: Oxidação do carbono orgânico pelo dicromato



De (A) x 2 + (B) x 3:



Vale ressaltar a importância da utilização do banho de gelo para que o equilíbrio da reação se desloque para os reagentes, uma vez tratar-se de uma reação exotérmica, onde os reagentes formarão os produtos, liberando energia térmica ao meio. A utilização desta prática é essencial para garantir que não ocorra consumo pontual do carbono orgânico, conferindo maior homogeneidade à solução e assegurando que a reação ocorra apenas quando a solução estiver sob o sistema de aquecimento e refluxo ³³.

Após a adição do ácido sulfúrico, o erlenmeyer é acoplado ao sistema de refluxo, sendo ligado o sistema de refrigeração do condensador e o sistema de aquecimento externo do meio reacional. O sistema de refluxo permite com que o meio reacional permaneça inalterado, além de garantir temperatura de ebulição estável e definida pela mistura dos reagentes empregados. O emprego do sistema de refluxo apresenta como vantagem a condensação constante da solução, o que permite a lavagem das paredes do erlenmeyer, conferindo a oxidação total da amostra.

Após 15 minutos, retira-se o erlenmeyer do aquecimento e a solução é resfriada em temperatura ambiente. A solução é, então, transferida para um balão volumétrico de 200 mL e o volume completado com água destilada. A adição da água destilada faz com que ocorra novo aumento da temperatura da solução. O menisco deve ser aferido após o resfriamento sob água corrente.

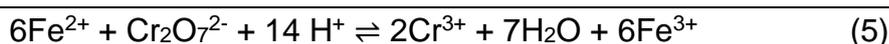
Da solução obtida, transfere-se uma alíquota de 10 mL para um erlenmeyer de 250 mL, adicionando água destilada para facilitar a visualização do ponto de viragem da titulação. A titulação é feita com sulfato ferroso amoniacal 0,1 mol.L⁻¹ como titulante e solução de difenilaminassulfonato de bário como indicador.

A reação envolvida é descrita na equação 5.

Equação 5: Determinação do dicromato através da titulação de sulfato ferroso amoniacal.



De (C) + (D) x 6:



Deve-se realizar uma prova em branco junto às amostras. Para tanto, repetir o procedimento descrito, utilizando, no lugar da amostra, água destilada isenta de carbono.

A determinação do carbono orgânico é, finalmente, obtido através da equação 6:

$$C (\%) = \frac{(V_a - V_b) \times A \times 300}{m} \quad (6)$$

Onde,

V_a = Volume da solução de sulfato ferroso amoniacal gasto na titulação da solução da amostra;

V_b = Volume da solução de sulfato ferroso amoniacal gasto na titulação da solução do branco;

A = Concentração molar do Fe^{2+} ;

m = massa, em miligramas, de amostra empregada.

As soluções utilizadas durante a determinação de carbono orgânico serão preparadas de acordo com os reagentes e concentrações contidas na Tabela 5.

Tabela 5: Soluções e reagentes utilizados na determinação de carbono orgânico

SOLUÇÃO	REAGENTES	CONCENTRAÇÃO
Dicromato de Potássio	$K_2Cr_2O_7$ p.a.; água destilada	0,02 mol L ⁻¹
Dicromato de Potássio	$K_2Cr_2O_7$ p.a.; água destilada	0,2 mol L ⁻¹
Sulfato Ferroso Amoniacal	$Fe(NH_4)_2(SO_4).6H_2O$; água destilada; H_2SO_4 concentrado	0,1 mol L ⁻¹
Difenilamina Sulfonato de Bário	Difenilamina; H_2SO_4 concentrado	-

Fonte: ³². Adaptado.

A padronização da solução de sulfato ferroso amoniacal 0,1 mol L⁻¹ é feita através da transferência de 10 mL da solução padrão 0,1 mol L⁻¹ de dicromato de potássio para erlenmeyer de 250 mL, adicionando-se 5 mL de ácido sulfúrico (1+5) e o indicador difenilaminassulfonato de bário. Titula-se esta solução com a solução preparada de sulfato ferroso amoniacal.

3.3.3. Determinação de Nitrogênio Total

Foi utilizado o micrométodo de Kjeldahl para determinar a quantidade de nitrogênio presente na amostra. Neste método é realizada a digestão com ácido sulfúrico a uma temperatura aproximada de 360°C.

A amostra previamente seca e moída é pesada e transferida para o fundo do balão kjeldhal com volume nominal de 100 mL. Ao frasco, são adicionados 10 mL de ácido sulfúrico contendo a mistura digestora e os balões são levados ao microdigestor. A mistura digestora, composta por sulfato de potássio (K_2SO_4) e selenito de sódio (Na_2SeO_3), é utilizada para aumentar o ponto de ebulição do ácido sulfúrico, permitindo a digestão completa da amostra. Esta etapa de digestão da amostra deve ser realizada dentro de uma capela.

A reação envolvida na digestão da amostra é demonstrada a seguir.

Equação 7: Digestão da matéria orgânica em presença de ácido sulfúrico



A amostra é digerida até a eliminação total dos compostos orgânicos, obtido com a evolução de fumos brancos de H_2SO_4 e se observa uma coloração mais límpida do extrato.

Ao finalizar a digestão, a amostra deve ser resfriada até temperatura ambiente e transferida, com o auxílio de um funil, para balão volumétrico de 50 mL, completando seu volume com água destilada ausente de nitrogênio e homogeneizando o extrato.

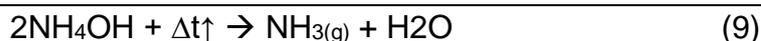
São transferidos 20 mL do extrato digerido para um tubo de destilação, que é acoplado ao microdestilador. Na saída do microdestilador é acoplado um erlenmeyer contendo 10 mL de solução de ácido bórico 4% (m/v) contendo uma mistura de indicadores e uma quantidade de água destilada ausente de nitrogênio, garantindo que o tubo de saída do microdestilador fique totalmente submerso nesta solução. É adicionado, então, 20 mL de hidróxido de sódio 50% e inicia-se a destilação com o aquecimento do sistema. É fundamental que o sistema esteja totalmente fechado durante a destilação, para que o nitrogênio, na forma gasosa, seja capturado pela solução ácida contida no tubo de saída e não seja perdido durante esta etapa da análise. A destilação é finalizada após cinco minutos de destilação.

As reações envolvidas na destilação do nitrogênio são representadas a seguir:

Equação 8: Adição de hidróxido de sódio ao extrato digerido



Equação 9: Aumento da temperatura do sistema do microdigestor



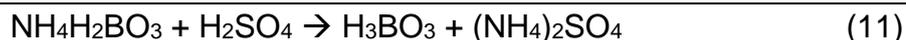
Equação 10: Captura da amônia pelo ácido bórico



Após a destilação, a base borato de amônio ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{BO}_3$) é retrotitulada, com o auxílio de uma bureta, com solução padronizada de ácido sulfúrico $0,036 \text{ mol.L}^{-1}$, sendo a quantidade de H_3O^+ utilizado proporcional ao nitrogênio em forma de amônio.

A titulação é finalizada quando a coloração da solução mudar do azul para o róseo, indicando o ponto de viragem e, portanto, o consumo total do borato de amônio pela solução de ácido sulfúrico, conforme demonstra a equação 11.

Equação 11: Retrotitulação do borato de amônio com solução de ácido sulfúrico



Deve-se repetir o processo para a prova em branco.

A determinação do nitrogênio é, por fim, calculada pela equação 12:

$$N(\%) = \frac{0,25 \times C \times V}{m} \quad (12)$$

Onde,

C = Concentração da solução titulante (mol.L^{-1})

V = Volume titulado (mL)

M = massa da amostra (g)

Seguem na Tabela 6 as concentrações e reagentes utilizados durante a análise.

Tabela 6: Soluções e reagentes utilizados na determinação de nitrogênio total

SOLUÇÃO	REAGENTES	CONCENTRAÇÃO
Mistura digestora	K ₂ SO ₄ p.a.; CuSO ₄ ·5H ₂ O p.a.; Selênio p.a.	-
Hidróxido de sódio	NaOH; Água destilada	10 mol L ⁻¹
Mistura indicadora de vermelho de metila e verde de bromocresol	Verde de bromocresol; Vermelho de metila; Etanol	-
Ácido bórico e indicador	Ácido bórico; Água destilada; Mistura indicadora; NaOH	-
Ácido sulfúrico	Ácido sulfúrico p.a.; Água deionizada;	0,036mol L ⁻¹
Ácido Sulfúrico	H ₂ SO ₄	Concentrado (18mol L ⁻¹)

Fonte: ³¹. Adaptado.

3.3.4. Determinação de metais

A amostra foi submetida à moagem criogênica e foi pesada uma massa de aproximadamente 0,25 g. A determinação dos metais magnésio (Mg), manganês (Mn), cobre (Cu), cromo (Cr), ferro (Fe), cádmio (Cd), zinco (Zn), chumbo (Pb), cálcio (Ca), sódio (Na) e potássio (K) foi realizada pelo método de digestão assistida por micro-ondas ³³. Foram realizadas as devidas diluições para que os elementos fossem determinados por absorção atômica em chama de ar-acetileno.

3.3.5. Determinação da pectina

3.3.5.1. Determinação da pectina pelo método tradicional

A extração da pectina foi inicialmente realizada conforme as variáveis operacionais utilizadas estão descritas na Tabela 7 ²³.

Tabela 7: Variáveis operacionais utilizadas para a extração de pectina da biomassa proveniente do processo de fabricação de suco de laranja

	Variáveis da extração da pectina			
	Temperatura	pH	Razão m/v *	Tempo
Valor adotado	80 °C	2,5	1:70	120 min

Fonte: ²³ *Razão entre a massa da amostra e o volume de água destilada.

Foi pesada em balança analítica 2 g da amostra previamente seca e moída e anotada a massa, que foi transferida para erlenmeyer com volume nominal de 250 mL. Foi adicionada água destilada na proporção 1:70 (m/v) e o pH da mistura foi corrigido para 2,5 com solução de ácido sulfúrico 0,1 mol.L⁻¹. A mistura foi então colocada sob uma chapa aquecedora, até a solução atingir 80°C, aferido por um termômetro. Ao atingir esta temperatura, foi ligado um agitador de bancada para homogeneizar a mistura durante o período de 120 minutos de extração.

O extrato foi então transferido para tubos Falcon com capacidade de 50 mL e centrifugado durante 10 minutos a 4.000 RPM para a separação do precipitado. Posteriormente, o extrato foi transferido para um béquer e foi adicionado etanol p.a. na razão 2:1 (volume de etanol / volume de extrato) para a formação do gel péctico.

A mistura ficou em repouso por uma hora e, após a total formação do gel, foi filtrada a vácuo e seca em estufa a 60°C até massa constante.

O cálculo do teor de pectina foi realizado conforme a equação 13

Equação 13: cálculo do teor de pectina em biomassa proveniente da fabricação de suco de laranja

$$P(\%) = \left(\frac{M.S.material\ péctico}{M.S.biomassa} \right) \times 100 \quad (13)$$

3.3.5.2. Estudo do Preparo da amostra na determinação da pectina

Foi estudada a influência da temperatura e da umidade durante processo de secagem da amostra, visando analisar três hipóteses:

H1: A temperatura, no processo de secagem da amostra, influencia a eficiência de extração da pectina;

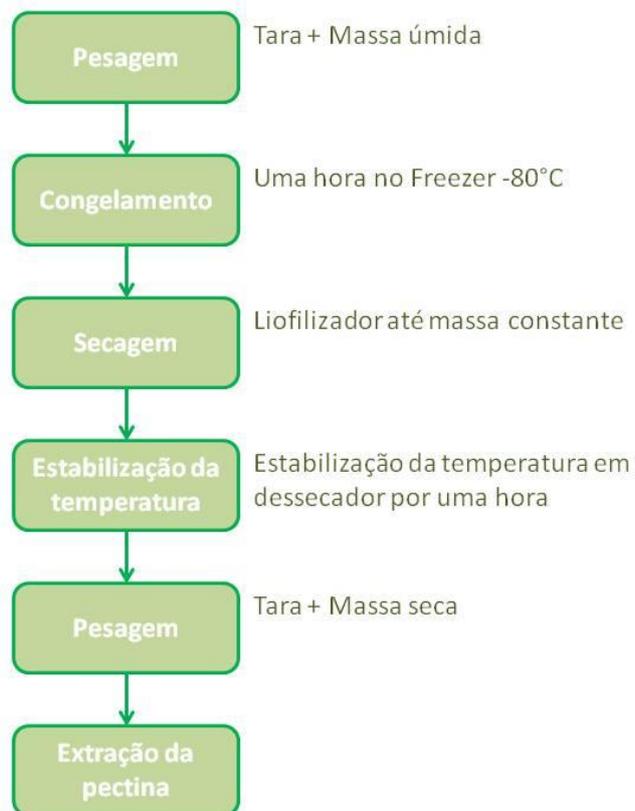
H2: A umidade da amostra influencia a eficiência da extração da pectina;

H3: A umidade e a temperatura, no processo de secagem da amostra, influenciam a eficiência de extração da pectina.

Para avaliar a influência da destes fatores durante o processo de secagem da amostra, foram adotados três tipos diferentes de secagem: em estufa a 60°C; passiva à sombra e; liofilização. Juntamente a este estudo, amostras úmidas foram colocadas em frascos hermeticamente fechados e colocadas em estufa a 60°C, evitando a perda de umidade. Foram realizados quatro testes com o intuito de avaliar a influência dos fatores citados isolada e simultaneamente, conforme descrito nas Figuras 4, 5, 6 e 7.

Vale ressaltar que a amostra foi, previamente à secagem, triturada com o auxílio de um processador de alimentos, com o intuito de reduzir o tamanho das partículas, facilitando o manuseio e pesagem.

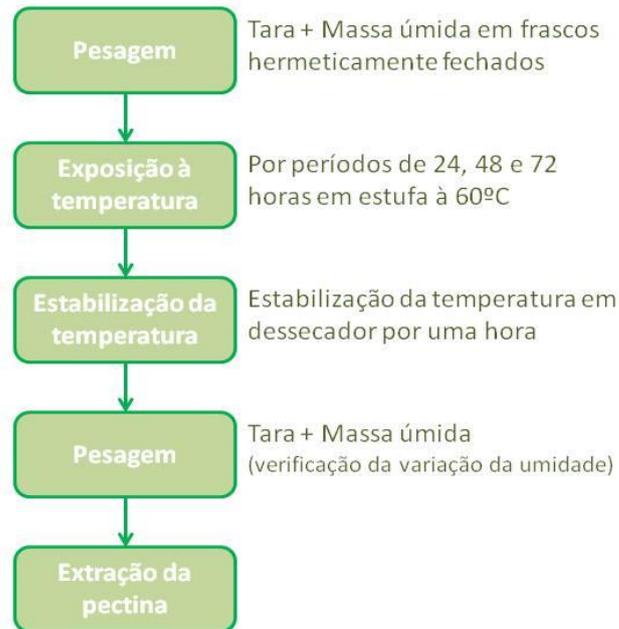
Figura 6: Teste 1: Secagem da amostra por liofilização



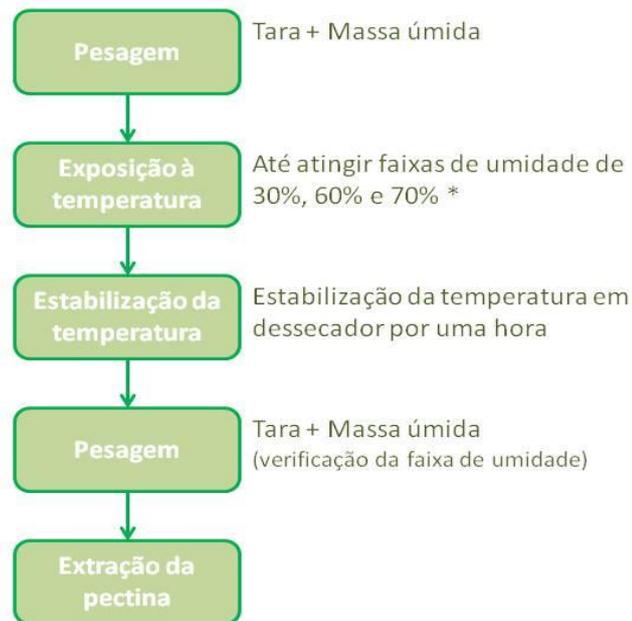
As amostras, neste teste, foram secas por liofilização. Desta maneira, almejou-se verificar se a umidade, sem o aumento da temperatura, durante o processo de

secagem da amostra, altera a eficiência de extração da pectina. A extração da pectina foi realizada conforme método convencional, com ressalva para o tamanho das partículas, que foi apenas centrifugada, com volume de aproximadamente 1 cm³, e seca. O teste foi realizado em triplicata.

Figura 7: Teste 2: Tempo de exposição ao aquecimento



A extração da pectina foi realizada conforme método convencional, com ressalva para o tamanho das partículas, que fora apenas centrifugada, com volume equivalente a 1 cm³, e seca. O teste foi realizado em triplicata.

Figura 8: Teste 3: Faixa percentual de umidade

*70% correspondeu à umidade total desta amostra

Previamente à realização deste teste, uma amostra foi submetida ao processo de secagem assistida, para que fosse possível avaliar o teor de umidade remanescente na amostra. Desta maneira, de hora em hora, a amostra colocada e estufa era retirada e sua massa verificada. O resultado deste teste permitiu traçar uma curva de secagem e estabelecer o tempo necessário para que as faixas de umidade visadas fossem alcançadas.

A extração da pectina foi realizada conforme método convencional, com ressalva para o tamanho das partículas, que fora apenas centrifugada, com volume equivalente à 1 cm,³ e seca. O teste foi realizado em triplicata.

Figura 9: Teste 4: Secagem passiva

A extração da pectina foi realizada conforme método convencional, com ressalva para o tamanho das partículas, que fora apenas cominuídas, com volume equivalente a 1 cm,³ e seca. O teste foi realizado em triplicata.

O Quadro 1 resume os fatores de influência estudados nos testes realizados.

Quadro 1: Fatores de influência presentes no preparo da amostra para a determinação da pectina

DESCRIÇÃO	Fator de influência avaliado	
	Temperatura	Umidade
Teste 1: Secagem da amostra por liofilização		
Teste 2: Tempo de exposição ao aquecimento	X	
Teste 3: Faixa percentual de umidade	X	X
Teste 4: Secagem passiva		X

Fonte: Autor.

3.3.5.3. Determinação da pectina pelo método proposto

Visando o preceito da química verde e do frasco único, o procedimento convencional foi adaptado para a redução de volume e otimização do processo operacional, resultando nas etapas (testes) citadas na sequência:

As variáveis estudadas durante a etapa de extração da pectina foram: tamanho das partículas, pureza do etanol, tempo de extração, pH e saturação do solvente pela relação m/v. Foram realizados quatro testes para avaliar os fatores estudados durante a etapa de extração da pectina, os quais foram realizados através de triplicatas:

Teste 5: Avaliação do tamanho das partículas e pureza do etanol.

O tamanho das partículas foi analisado através da utilização da amostra triturada num processador convencional, com volume aproximado, após o processamento, de 1 cm³ e da amostra pulverizada. As amostras foram processadas para facilitar a pesagem da mesma e a avaliação do tamanho das partículas foi realizada comparando os resultados de extração da pectina obtidos com a amostra triturada seca e com a amostra pulverizada.

O procedimento realizado, após a cominuição da amostra, foi a secagem em estufa à 60°C até massa constante. Parte desta amostra permaneceu com seu tamanho inalterado, enquanto que outra parte foi pulverizada com o auxílio de um gral com pistilo de porcelana. Tanto a parcela apenas centrifugada, quanto a pulverizada foram utilizadas para a extração da pectina.

Concomitantemente ao teste de tamanho de partículas, foi realizado o teste da pureza do etanol. Foram realizadas repetições deste teste com a adição de etanol p.a. (99,5%) e etanol comercial (92%).

Teste 6: Avaliação do pH da mistura.

O fator pH foi analisado à partir de faixas fixadas de pH: 1,5 e 2,5. O pH da mistura foi corrigido com solução de ácido sulfúrico 0,1 mol L⁻¹.

O teste foi precedido de uma curva de titulação, de forma a estudar a quantidade, em número de mols de H⁺, necessária para atingir o pH idealizado.

Através desta curva de titulação foi possível estabelecer a faixa de pH utilizada para estudar a influência do fator pH no processo de extração da pectina.

Teste 7: Avaliação do tempo de extração.

Para fins do estudo do tempo de extração, foram estipulados tempos de 60 e 120 minutos, aos quais a amostra foi submetida ao aquecimento de 80°C em banho-maria com agitação horizontal e ataque ácido, com a correção do pH da mistura para 2,5, através da adição de solução de ácido sulfúrico 0,1 mol L⁻¹.

Teste 8: Avaliação da saturação do solvente.

A avaliação da saturação do solvente foi realizada de forma a utilizar a menor relação m/v possível sem que ocorresse a saturação do meio extrator. Esta etapa foi realizada diminuindo-se, gradativamente, a relação m/v até se alcançar o limite de saturação para a amostra e solvente utilizados. A relação inicial empregada foi de 1:70 (m/v), recomendada na literatura. Esta relação foi reduzida até que ocorresse a completa saturação do meio.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Caracterização da amostra

Para a caracterização da amostra, foram determinados os teores dos metais magnésio (Mg), manganês (Mn), cobre (Cu), cromo (Cr), ferro (Fe), cádmio (Cd), zinco (Zn), chumbo (Pb), cálcio (Ca), sódio (Na) e potássio (K), bem como realizada a análise de carbono (C) e nitrogênio (N), além do teor de umidade da amostra e calculada a relação C/N.

A caracterização da amostra segue na Tabela 8.

Tabela 8: Caracterização da biomassa proveniente da indústria de suco de laranja

Elemento	Concentração	Unidade
Manganês	65,5	
Cobre	10,5	
Cromo	1,3	mg kg ⁻¹
Cádmio	1	
Zinco	4,5	
Chumbo	10	
Cálcio	6,6	
Sódio	0,1	
Potássio	12,8	
Magnésio	1,1	g kg ⁻¹
Ferro	8,6	
Carbono	401,9	
Nitrogênio	12,3	
Relação C/N	33	-
Umidade	70,45	%

Os valores contidos nesta tabela foram obtidos através de análise realizada no Departamento de Ciências Exatas, área de química, da ESALQ/USP para a amostra estudada.

Por se tratar de um material bastante heterogêneo, composto de casca, semente e polpa ²¹, as concentrações de metais possuem variação bastante ampla. Os valores de concentração de cobre a manganês encontrados na literatura variam, respectivamente, na faixa de 33 – 304 µg L⁻¹ e 64 – 308 µg L⁻¹ ³⁴.

4.2. Estudo das variáveis do preparo da amostra

Previamente, uma alíquota fora totalmente seca para que fosse possível a determinação do percentual de umidade da amostra. O resultado obtido foi na faixa de 70,45% de umidade, portanto, a massa úmida adotada para a elaboração dos testes foi de 10 g, o que confere uma massa seca de superior a 2 g – massa proposta para a extração da pectina pelo método convencional.

Os resultados dos testes realizados para avaliar se os fatores de influência durante o preparo da amostra influenciam a eficiência da extração da pectina são demonstrados na sequência.

Teste 1: Secagem da amostra por liofilização.

As amostras foram secas utilizando um liofilizador, de forma a verificar se o fator de influência umidade, durante a etapa de preparo da amostra, altera a eficiência da extração da pectina.

Os resultados de percentual de umidade e massa seca seguem expressos na Tabela 9.

Tabela 9: Teste 1: Massa seca e percentual de umidade inicial das alíquotas

ID	T (g)	M.U. (g)	M.S. + T (g)	M.S. (g)	U (%)
L1	82,6601	10,5318	85,7128	3,0527	71,01
L2	85,1159	10,1697	88,0479	2,9320	71,17
L3	79,3660	10,0718	82,3047	2,9387	70,82
				\bar{x}	71
				S	0,1737
				CV	0,2447

M.U. = Massa úmida; M.S. = Massa seca; T = Tara; U = Umidade; \bar{x} = Média; S = Desvio padrão; CV = Coeficiente de variação.

Pode-se observar um coeficiente de variação pequeno, o que confere boa reprodutibilidade ao processo de secagem da amostra através do método da liofilização. Os valores percentuais de umidade apresentaram um valor médio de 71 %, sendo que o valor de umidade obtido para cada alíquota está presente no intervalo de $71 \pm 0,24$ % (m/m).

O resultado do percentual de pectina foi calculado pela equação 10 e segue expresso na Tabela 10. Vale ressaltar que o valor da tara foi obtido após a pesagem do papel filtro faixa branca, que fora previamente identificado e seco a 110°C por 24 horas.

Tabela 10: Teste 1: Massa seca e percentual de pectina das alíquotas

ID	T (g)	M.S. + T (g)	M.S. (g)	P (%)
L1	1,0280	1,2422	0,2142	7,02
L2	1,0134	1,2071	0,1937	6,61
L3	1,0474	1,2942	0,2468	8,40
			\bar{x}	7,34
			S	0,94
			CV	12,8

M.S. = Massa seca; T = Tara; P = Pectina; \bar{x} = Média; S = Desvio padrão; CV = Coeficiente de variação.

Os valores percentuais de pectina obtidos através deste teste apresentaram um coeficiente de variação de 12,8%. Os resultados das alíquotas 1, 2 são considerados estatisticamente iguais e são compreendidos no intervalo médio $7,34 \pm 0,94$.

O teste não apresentou boa precisão e, ao comparar os valores de pectina aqui obtidos com os valores da literatura, é notável a diferença da eficiência de extração, uma vez que a literatura cita valores na faixa de 20-30%²³.

Vale ressaltar que, no processo convencional, o preparo da amostra é feito através da secagem em temperatura na faixa de 60°C, o que não ocorre no procedimento aqui proposto, levantando a hipótese de que a elevação da temperatura, durante a etapa de preparo da amostra, altera a eficiência de extração da pectina.

Teste 2: Tempo de exposição ao aquecimento

O intuito deste teste foi submeter a amostra à temperatura utilizada para a secagem, porém visando avaliar se o fator de influência temperatura, isoladamente, interfere na eficiência da extração da pectina. Desta maneira, as amostras foram pesadas num recipiente hermeticamente fechado e submetidas à temperatura de 60°C, em estufa, não alterando o fator umidade.

Neste teste, a mesma amostra foi submetida a três diferentes tempos de exposição à temperatura de 60°C ($T_1 = 24$ horas, $T_2 = 48$ horas e $T_3 = 72$ horas). Assim,

foram utilizadas nove alíquotas, garantindo três repetições para cada tempo de exposição (A, B e C) e posterior realização da análise estatística.

O objetivo de manter a umidade da amostra teve resultado satisfatório neste teste. É possível observar na Tabela 11 que o percentual de umidade da amostra não se alterou e manteve-se constante e na faixa de 70%, que representa a umidade total da amostra.

Tabela 11 Teste 2: Percentual de umidade final das alíquotas. T1 = 24 horas, T2 = 48 horas e T3 = 72 horas, A, B, C são replicatas

ID	T (g)	M.U.0 (g)	M. U.f + T (g)	M.U.f (g)	M.S. (g)	U (%)
T1A	30,9206	10,4070	41,2546	10,3340	3,0753	70,24
T1B	30,7131	10,5959	41,2321	10,5190	3,1311	70,23
T1C	31,0329	10,2652	41,2068	10,1739	3,0334	70,18
					\bar{x}	70,22
					S	0,03
					CV	0,04
T2A	31,1787	10,4782	41,3831	10,2044	3,0963	69,66
T2B	30,5545	10,2514	40,6585	10,1040	3,0293	70,02
T2C	31,6822	10,0045	41,4458	9,7636	2,9563	69,72
					\bar{x}	69,80
					S	0,19
					CV	0,28
T3A	30,9187	10,2878	40,8097	9,8910	3,0400	69,26
T3B	31,3941	10,9841	42,1230	10,7289	3,2458	69,75
T3C	30,6907	10,1323	40,4170	9,7263	2,9941	69,22
					\bar{x}	69,41
					S	0,29
					CV	0,42

M.U.0 = Massa úmida inicial; M. U.f = Massa úmida final; M.S. = Massa seca; T = Tara; U = Umidade; \bar{x} = Média; S = Desvio padrão; CV = Coeficiente de variação.

É possível observar pouca variação no percentual de umidade da amostra, o que garante que os efeitos aqui analisados são decorrentes da exposição da amostra à elevação da temperatura, sem a perda da umidade. Os valores de umidade final obtidos entre os tratamentos 1, 2 e 3 estão contidos, respectivamente, nos intervalos médios $70,22 \pm 0,03$, $69,80 \pm 0,19$ e $69,41 \pm 0,29$.

Para conferir se os valores de umidade permaneceram constantes entre os tratamentos, foi realizada a análise de variância (ANOVA) do conjunto obtido, conforme sugere quadro de ANOVA.

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico
Entre grupos	0,9862	2	0,493087	11,8950	0,0081	5,1432
Dentro dos grupos	0,2487	6	0,041453			
Total	1,2349	8				

Através da ANOVA, pode-se verificar um valor-p inferior a 0,05, o que garante que os valores de umidade obtidos não apresentam diferença a um nível de 95% de confiança, ou seja, são considerados estatisticamente iguais.

Os valores obtidos após a extração da pectina estão expressos, em valores percentuais, na Tabela 12. Vale ressaltar que o valor da tara foi obtido após a pesagem do papel filtro faixa branca, que fora previamente identificado e seco a 110°C por 24 horas.

Tabela 12: Teste 2: Massa seca e percentual de pectina nas alíquotas

ID	T (g)	M.S. + T (g)	M.S. (g)	P (%)
T1A	1,0312	1,0618	0,0306	1,00
T1B	1,0082	1,0433	0,0351	1,12
T1C	1,0228	1,0670	0,0442	1,46
			\bar{x}	1,19
			S	0,24
			CV	20,06
T2A	1,0268	1,0437	0,0169	0,55
T2B	1,0236	1,0549	0,0313	1,03
T2C	1,0239	1,0513	0,0274	0,93
			\bar{x}	0,84
			S	0,26
			CV	30,68
T3A	1,0202	1,0613	0,0411	1,35
T3B	1,0142	1,0503	0,0361	1,11
T3C	1,0314	1,0520	0,0206	0,69
			\bar{x}	1,05
			S	0,34
			CV	32

M.S. = Massa seca; T = Tara; P = Pectina; \bar{x} = Média; S = Desvio padrão; CV = Coeficiente de variação.

Para avaliar se houve diferença de eficiência de extração da pectina entre os tratamentos, foi realizada a análise de variância dos resultados obtidos:

ANOVA						
Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico
Entre grupos	0,1927	2	0,0963	1,2258	0,3578	5,1432
Dentro dos grupos	0,4716	6	0,0786			
Total	0,6643	8				

Estatisticamente, os tratamentos não diferem entre si, porém os valores de eficiência de extração apresentam um resultado bastante inferior ao da literatura, além de um coeficiente de variação bastante considerável.

A hipótese levantada no teste 1 de que a eficiência de extração da pectina está associada à elevação da temperatura durante o preparo da amostra, de acordo com os resultados obtidos no teste 2, pode ser desconsiderada.

Outra hipótese levantada foi a de que os fatores de influência umidade e temperatura durante o preparo da amostra apresentam influência na extração da pectina quando estudado o seu efeito cruzado.

Teste 3: Faixa percentual de umidade.

A finalidade deste teste foi verificar se a interação dos fatores umidade e temperatura, durante a secagem da amostra, interferem na eficiência da extração da pectina.

Antes da aplicação do teste, foi realizada uma secagem assistida. Duas alíquotas foram submetidas à secagem a 60°C e, em intervalos de 60 minutos, foram retiradas da estufa e a massa de água perdida era aferida, conforme Tabela 13.

Tabela 13: Teste 3: Secagem assistida – percentual de umidade

Tempo (h)	Amostra 1			Amostra 2		
	Tara (g):	75,9193		Tara (g):	99,6160	
	T + M (g)	M (g)	U (%)	T + M (g)	M (g)	U (%)
0	86,3987	10,4794	71,90	110,2188	10,6028	72,68
1	84,9937	9,0744	67,55	108,6898	9,0738	68,08
2	83,6704	7,7511	62,01	107,3304	7,7144	62,45
3	82,4886	6,5693	55,17	106,0631	6,4471	55,07
4	81,5089	5,5896	47,31	104,9733	5,3573	45,93
5	80,6104	4,6911	37,22	104,0707	4,4547	34,98
6	80,0414	4,1221	28,56	103,4282	3,8122	24,02
7	79,5270	3,6077	18,37	102,9703	3,3543	13,65
8	79,2131	3,2938	10,59	102,7372	3,1212	7,20
9	79,0085	3,0892	4,67	102,6242	3,0082	3,71
24	78,8642	2,9449	0,00	102,5126	2,8966	0,00

T = Tara; M = Massa total; U = Umidade.

Com a realização do teste prévio, foi possível determinar o tempo de secagem necessário para a obtenção da faixa de umidade desejada. Assim foram selecionadas três faixas de umidade (U_0 : amostra totalmente úmida; U_1 : amostra com 60% de umidade e; U_2 : amostra com 30% de umidade) com três alíquotas (A, B e C) para garantir a reprodutibilidade do teste, conforme Tabela 14. Os valores de massa seca são teóricos e foram calculados considerando o valor médio da umidade total da amostra equivalente a 70,45%.

Tabela 14: Teste 3: Valor percentual de umidade após secagem parcial das alíquotas. Tempo de secagem utilizado entre 2-3 horas e 5-6 horas para atingir, respectivamente, faixas de 60% e 30% de umidade

ID	T (g)	M (g)	M (g)	M (g)	M.S. (g)	U (%)	
U0A	83,7491	10,6423	94,3914	10,6423	3,1448	70,45	
U0B	87,5211	10,0412	97,5623	10,0412	2,9672	70,45	
U0C	83,4548	10,1418	93,5966	10,1418	2,9969	70,45	
						\bar{x}	70,45
						S	0
						CV	0
U1A	79,3648	10,7624	88,9748	9,6100	3,1803	59,74	
U1B	85,1160	10,3950	94,4965	9,3805	3,0717	60,69	
U1C	82,6598	10,0808	91,7009	9,0411	2,9789	60,14	
						\bar{x}	60,19
						S	0,48
						CV	0,79
U2A	98,8205	10,6124	105,4339	6,6134	3,1360	32,77	
U2B	92,0016	10,5480	99,0719	7,0703	3,1169	37,48	
U2C	93,2514	10,3355	99,6595	6,4081	3,0541	32,45	
						\bar{x}	34,23
						S	2,82
						CV	8,23

T = Tara; M = Massa total (M.S. + água); M.S. = Massa seca; U = Umidade; \bar{x} = Média; S = Desvio padrão; CV = Coeficiente de variação.

Por se tratar de faixas percentuais de umidade preestabelecidas, cada tratamento difere entre si, não sendo aplicável um teste de comparação de umidade entre os tratamentos.

Os valores de pectina obtidos após a extração estão expressos, em valores percentuais, na Tabela 15. Vale ressaltar que o valor da tara foi obtido após a pesagem do papel filtro faixa branca, que fora previamente identificado e seco a 110°C por 24 horas.

Tabela 15: Teste 3: Massa seca e percentual de pectina nas alíquotas

ID	T (g)	M.S. + T (g)	M.S. (g)	P (%)
U0A	1,0365	1,2426	0,2061	6,55
U0B	1,0228	1,2536	0,2308	7,78
U0C	1,0304	1,2547	0,2243	7,48
			\bar{x}	7,27
			S	0,64
			CV	8,79
U1A	1,0396	1,2596	0,2200	6,92
U1B	1,0148	1,1996	0,1848	6,02
U1C	1,0296	1,2387	0,2091	7,02
			\bar{x}	6,65
			S	0,55
			CV	8,28
U2A	1,0193	1,1659	0,1466	4,67
U2B	1,0184	1,1228	0,1044	3,35
U2C	1,0284	1,1985	0,1701	5,57
			\bar{x}	4,53
			S	1,12
			CV	24,65

M.S. = Massa seca; T = Tara; P = Pectina; \bar{x} = Média; S = Desvio padrão; CV = Coeficiente de variação.

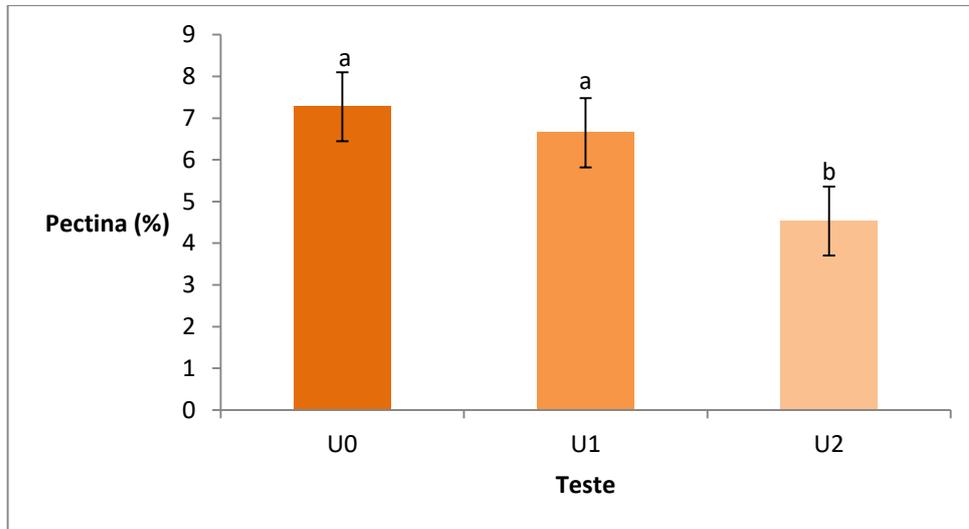
ANOVA

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico
Entre grupos	12,3921	2	6,1960	9,4774	0,0139	5,1432
Dentro dos grupos	3,9226	6	0,6538			
Total	16,3147	8				

Ao analisar o quadro da ANOVA, podemos verificar que existe diferença entre os tratamentos. Para determinar qual tratamento difere, foi realizado o teste de Tukey, com $\alpha = 5\%$.

Através do teste de Tukey, foi possível verificar que apenas o teste U2 difere dos demais, conforme sugere a figura, contendo o erro padrão.

Figura 10: Gráfico de valores médio de extração da pectina. U0 = amostra fresca, U1 e U2 = amostras secas respectivamente a 60 e 30%.



Ao analisar o resultado aqui obtido, pode-se notar que a exposição à temperatura de 60°C, sem a secagem total da amostra, diminuiu a eficiência de extração da pectina.

No teste U0, a amostra foi submetida ao processo de extração da pectina ainda fresca, ou seja, com o seu percentual de umidade inalterado e sem ser submetida à elevação da temperatura para a sua secagem. Em contrapartida, nos teste U1 e U2, as amostras foram submetidas ao aquecimento até atingirem a faixa de umidade de, respectivamente, 60% e 30%. Desta maneira e, conforme pode ser observado na Tabela 14, o tempo de exposição ao aquecimento das amostras foi entre duas e três horas para alcançar a faixa de umidade de 60% e entre cinco e seis horas para alcançar a faixa de umidade de 30%.

A observação foi de que o aquecimento da amostra, durante o processo de secagem, diminuiu a eficiência de extração da pectina. Uma possível causa é a formação de reações de Maillard, entre a pectina e as proteínas do material, probabilidade esta reforçada pela alteração da cor da amostra com escurecimento característico da formação das meloidinas.

Quando se compara os valores de extração da pectina obtidos pelo teste 1, onde a amostra foi totalmente seca sem a elevação da temperatura durante o processo de secagem (liofilização) com o teste 3 (amostra U0), onde a amostra foi usada fresca, ou seja, sem passar pelo processo de secagem, tem-se a seguinte análise de variância:

ANOVA						
Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico
Entre grupos	0,0081	1	0,0081	0,0125	0,9164	7,7086
Dentro dos grupos	2,5815	4	0,6454			
Total	2,5895	5				

Pode-se observar, com a análise de variância apresentada, que não houve diferença entre os tratamentos. Dessa maneira, acredita-se que o processo de secagem total da amostra não influencia no processo de extração da pectina. O processo de secagem da amostra apresentaria como vantagem um obstáculo para a degradação da matéria prima pela ação microbiológica e, em grande escala, é realizado pelo aquecimento da matéria-prima. Neste sentido, torna-se importante estudar o processo de secagem, visando o aumento da eficiência de extração da pectina.

Em todos os testes realizados, a elevação da temperatura da amostra, durante o processo de secagem, apresentou resultado insatisfatório. Contrariamente, vale ressaltar que os testes com o aumento da temperatura secaram a amostra parcialmente. Assim, as comparações até então realizadas não compreendem a secagem total da amostra com a elevação da temperatura, o que não confere a baixa eficiência de extração da pectina à elevação da temperatura como fator isolado, uma vez a umidade da amostra ainda presente nestes testes.

Teste 4: Secagem passiva.

Este teste teve como intuito avaliar se o fator de influência umidade, isoladamente, afeta o desempenho da extração da pectina. Outra justificativa para a elaboração deste teste foi a premissa de um processo ambientalmente amigável: a secagem da amostra por ação prolongada, sem a necessidade de processos tecnológicos para tal.

Tal premissa foi fundamentada no processo de compostagem, devido à secagem natural que ocorre durante a biodigestão. O teste permitiria analisar se o material a ser avaliado – a pectina – seria consumido, ou seria mais facilmente extraído devido ao processo de secagem natural.

Esta simulação, entretanto, não foi possível devido à pouca quantidade de amostra utilizada, não havendo a proliferação de microrganismos. Foi possível avaliar, portanto, apenas o processo de secagem da amostra sem a utilização de um processo tecnológico.

Como o propósito foi simular o processo de compostagem, foram selecionados sete dias (SP₁, SP₂, SP₃, SP₄, SP₅, SP₆ e SP₇) para a avaliação da extração da pectina após a etapa de secagem passiva. No entanto, ao realizar as pesagens, verificou-se massa constante a partir do quarto dia (SP₄) de análise, o que confere secagem total da amostra pelo método proposto. Neste contexto, o ensaio foi interrompido com período de até quatro dias de secagem passiva (SP₁, SP₂, SP₃ e SP₄), sendo utilizadas três alíquotas (A, B e C) para cada um dos períodos de tempo propostos. Os resultados obtidos com este teste seguem descritos nas Tabelas 16 e 17.

Tabela 16: Teste 4: Percentual de umidade das alíquotas

ID	T (g)	M. U. 0 (g)	M.U. f + T (g)	M.U. f (g)	M.S. (g)	U (%)
SP1A	65,3888	10,8240	72,5369	7,1481	3,1985	55,25
SP1B	69,8895	10,1393	76,6012	6,7117	2,9962	55,36
SP1C	61,7829	9,9865	68,3816	6,5987	2,9510	55,28
					\bar{x}	55,30
					S	0,05
					CV	0,10
SP2A	105,2690	10,0671	108,9621	3,6931	2,9748	19,45
SP2B	93,2605	10,5870	97,7733	4,5128	3,1285	30,68
SP2C	114,9424	10,2225	119,2330	4,2906	3,0207	29,60
					\bar{x}	26,57
					S	6,19
					CV	23,31
SP3A	124,0897	10,7916	127,6383	3,5486	3,1889	10,14
SP3B	114,9614	10,3886	118,3338	3,3724	3,0698	8,97
SP3C	100,3359	10,0388	103,6500	3,3141	2,9665	10,49
					\bar{x}	9,87
					S	0,79
					CV	8,05
SP4A	77,2793	10,6114	80,6771	3,3978	3,1357	7,71
SP4B	92,7948	10,6709	96,1446	3,3498	3,1533	5,87
SP4C	101,8053	10,7921	105,2498	3,4445	3,1891	7,42
					\bar{x}	7,00
					S	0,99
					CV	14,17

T = Tara; **M. U. 0** = Massa úmida inicial; **M.U. f** = Massa úmida final; M.S. = Massa seca; U = Umidade; \bar{x} = Média; S = Desvio padrão; CV = Coeficiente de variação.

Os valores obtidos após a extração da pectina estão expressos, em valores percentuais, na Tabela 18. Vale ressaltar que o valor da tara foi obtido após a pesagem do papel filtro faixa branca, que fora previamente identificado e seco à 110°C por 24 horas

Tabela 17: Teste 4: Massa seca e percentual de pectina nas alíquotas

ID	T (g)	M.S. + T (g)	M.S. (g)	P (%)
SP1A	1,0126	1,1880	0,1754	5,48
SP1B	1,0237	1,1823	0,1586	5,29
SP1C	1,0176	1,1414	0,1238	4,20
			\bar{x}	4,99
			S	0,70
			CV	13,94
SP2A	1,0316	1,1786	0,1470	4,94
SP2B	1,0159	1,1423	0,1264	4,04
SP2C	1,0162	1,1650	0,1488	4,93
			\bar{x}	4,64
			S	0,52
			CV	11,13
SP3A	1,0091	1,1569	0,1478	4,63
SP3B	1,0291	1,1896	0,1605	5,23
SP3C	1,0306	1,1764	0,1458	4,91
			\bar{x}	4,93
			S	0,30
			CV	6,03
SP4A	1,0269	1,2339	0,2070	6,60
SP4B	1,0197	1,2320	0,2123	6,73
SP4C	1,0216	1,1891	0,1675	5,25
			\bar{x}	6,20
			S	0,82
			CV	13,23

M.S. = Massa seca; T = Tara; P = Pectina; \bar{x} = Média; S = Desvio padrão; CV = Coeficiente de variação.

Ao finalizar este estudo, obtivemos valores percentuais de pectina ainda muito inferiores ao encontrado na literatura. Os melhores resultados aqui obtidos foram na faixa de 7% de material péctico, o que corresponde a menos de $\frac{1}{4}$ do encontrado na literatura, onde são obtidos valores de 20 até 30% em bagaço de laranja.

ANOVA						
Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico
Entre grupos	4,2717	3	1,4239	3,7822	0,0588	4,0662
Dentro dos grupos	3,0118	8	0,3765			
Total	7,2835	11				

A análise de variância também não apresentou diferença entre os tratamentos aqui propostos, conforme observado no quadro, o que poderia conferir alguma vantagem ambiental ao processo de secagem passiva devido a não necessidade de utilização de energia para o processo.

No entanto, ao comparar os resultados do teste 4 – secagem passiva – com os resultados do teste 1 – secagem por liofilização –, tem-se a seguinte análise de variância:

ANOVA						
Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico
Entre grupos	15,4432	4	3,8608	8,0928	0,0035	3,4780
Dentro dos grupos	4,7707	10	0,4771			
Total	20,2139	14				

É possível notar que há diferença estatística entre os resultados obtidos com a secagem total da amostra e a secagem passiva. Apesar de ambos os testes apresentarem massa constante, os testes de liofilização e de secagem passiva apresentaram, respectivamente, uma redução do percentual de umidade final de 100 e 90%, o que ainda confere a possibilidade da redução de extração da pectina estar associada à presença de umidade da amostra.

Os resultados obtidos com os testes realizados para estudar as variáveis do preparo da amostra, indicam que a secagem da amostra não confere melhor eficiência de extração da pectina.

A secagem da amostra, durante a etapa de preparo, pode ser utilizada para a redução do volume, além de conferir maior facilidade de manuseio e armazenamento, minimizando sua degradação devido à ação microbiana.

4.3. Estudo das variáveis da extração da pectina

Apesar de haver uma diferença estatística entre os tratamentos propostos quanto ao preparo da amostra, os valores de eficiência máximos de extração da pectina aqui obtidos estão muito distantes dos valores presentes na literatura. Assim, houve continuidade do estudo dos fatores que influenciam a determinação da pectina. Desta vez, o enfoque foi para as variáveis envolvidas na etapa de extração da pectina, avaliando: tamanho das partículas; pureza do etanol; tempo de extração; pH da mistura e; avaliação da saturação do solvente.

Teste 5: Avaliação do tamanho das partículas e da pureza do etanol.

Para a realização do teste 5, a amostra foi seca à 60°C e pulverizada com o auxílio de um gral com pistilo. Todas as alíquotas utilizadas foram pulverizadas e foram utilizados o etanol comercial (92%) e o etanol p.a. (99,5%) e os resultados obtidos estão contidos na Tabela 18.

A extração da pectina foi realizada conforme metodologia convencional, com variação na utilização do etanol, visando avaliar se a sua pureza interfere na eficiência determinação da pectina.

Tabela 18: Teste 5a: Massa seca e percentual de pectina das alíquotas

AMOSTRA			PECTINA			
ID	M.S. (g)	ETANOL	T (g)	T + M.S. (g)	M.S. (g)	P (%)
Et1	2,0448	Comercial	1,0337	1,3244	0,2907	14,22
Et2	1,9313	Comercial	1,0279	1,4192	0,3913	20,26
Et3	1,9347	Comercial	1,0172	1,3247	0,3075	15,89
					\bar{x}	16,79
					S	3,12
					CV	18,58
Et4	1,9990	p.a.	0,8800	1,3532	0,4732	23,67
Et5	1,9397	p.a.	1,0018	1,4332	0,4314	21,94
Et6	1,9397	p.a.	1,0198	1,4097	0,3899	20,10
					\bar{x}	21,90
					S	1,79
					CV	8,15

M.S. = Massa seca; T = Tara; P = Pectina; \bar{x} = Média; S = Desvio padrão; CV = Coeficiente de variação.
ANOVA

<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i>	<i>gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
Entre grupos	39,2022	1	39,2022	6,0661	0,0695	7,7086
Dentro dos grupos	25,8500	4	6,4625			
Total	65,0522	5				

A análise de variância aponta para indiferença entre os tratamentos, ou seja, a utilização de etanol p.a. e comercial não apresentam diferenças estatísticas, podendo ser utilizado o etanol comercial como opção para diminuir os custos com o processo de extração da pectina.

Além disso, o etanol pode ser recuperado e reutilizado no processo de coagulação da pectina, conferindo maior sustentabilidade e um processo em ciclo.

O tamanho das partículas foi avaliado através da secagem total da amostra à temperatura de 60°C. A amostra foi triturada num processador comercial e, após a secagem, parte foi mantida com o dimensionamento após a trituração (1 cm³) e outra parte foi pulverizada com o auxílio de gral com pistilo.

Tabela 19: Teste 5b: Massa seca e percentual de pectina das alíquotas

ID	M.S. (g)	Tamanho da partícula	T (g)	T + M.S. (g)	M.S. (g)	P (%)
TP1	2,9665	Triturada	1,0318	1,1703	0,1385	4,67
TP2	2,953	Triturada	1,0307	1,2349	0,2042	6,92
TP3	2,9599	Triturada	1,0065	1,2152	0,2087	7,05
					\bar{x}	6,21
					S	1,34
					CV	21,54
TP4	2,0212	Pulverizada	1,0396	1,4169	0,3773	18,67
TP5	2,0271	Pulverizada	1,0257	1,3865	0,3608	17,80
TP6	2,0335	Pulverizada	1,0138	1,3939	0,3801	18,69
					\bar{x}	18,39
					S	0,51
					CV	2,77

M.S. = Massa seca; T = Tara; P = Pectina; \bar{x} = Média; S = Desvio padrão; CV = Coeficiente de variação

ANOVA

<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i>	<i>gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
Entre grupos	222,3234	1	222,3234	217,0684	0,0001	7,7086
Dentro dos grupos	4,0968	4	1,0242			
Total	226,4202	5				

De acordo com a análise de variância realizada, pode-se verificar que houve diferença entre os tratamentos. A amostra pulverizada apresentou eficiência de extração superior à amostra triturada.

Comparando o resultado das extrações das amostras trituradas e secas com o resultado do teste 1, pode-se elaborar a seguinte análise:

ANOVA						
Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico
Entre grupos	1,9154	1	1,9154	1,4347	0,2971	7,7086
Dentro dos grupos	5,3401	4	1,3350			
Total	7,2555	5				

A análise estatística exibe a similaridade entre os tratamentos. A comparação entre estes, de forma divergente dos tratamentos realizados nos testes do preparo da amostra, apresenta amostras totalmente secas por processos diferentes: sem e com o aumento da temperatura.

O questionamento sobre o aquecimento, durante a etapa de secagem da amostra, interferir na eficiência do processo de extração da pectina fica melhor esclarecido neste ponto, pois tem-se a comparação entre amostras totalmente secas, ou seja, o aquecimento da amostra apresenta comportamento prejudicial quando associado à amostra não totalmente seca, ou seja, os fatores de influência umidade e temperatura, concomitantemente, afetam, negativamente, a eficiência de extração da pectina.

Teste 6: Avaliação do pH da mistura.

Previamente ao teste da avaliação do pH, foi realizada uma curva de titulação para que fosse possível entender o comportamento da reação. O intuito foi definir um valor de pH que facilitasse o processo de extração da pectina. Para tanto, foi pesado aproximadamente 10,0 g da amostra úmida e triturada e titulado ácido sulfúrico até o pH alcançar a faixa de 1,5. Foi verificado, durante a titulação, que a mistura forma um tampão em $\text{pH} \leq 2,0$, o que tornou inviável a utilização de pH abaixo desta faixa.

Assim, foram realizadas três titulações: A, B₁, e B₂. Na titulação A, a amostra utilizada foi seca e pulverizada, enquanto que nas titulações B, a amostra utilizada estava úmida e triturada em pedaços com volume aproximado de 1 cm³.

Foi realizada uma curva de titulação para a amostra A e outra para a amostra B₁, conforme sugere a Tabela 20. As massas de amostra utilizadas foram, respectivamente, para a amostra A e B₁, 1,6625 g (amostra seca) e 5,5643 g (amostra úmida). Como a umidade da amostra corresponde a 70,45%, consideramos que a massa seca utilizada na amostra B₁ equivale a 1,6442 g.

Tabela 20: Teste 6: Curva de titulação

Amostra A		Amostra B ₁	
pH	Volume H ₂ SO ₄ 0,1 M (mL)	pH	Volume H ₂ SO ₄ 0,1 M (mL)
5,1	0	5,6	0
4,5	0,6	4,3	0,5
4	1,3	4	0,7
3,5	2,4	3,5	1,4
3	4,2	3	2,5
2,5	7,8	2,5	5,5
2	17,1	2	14,6

A diferença obtida na titulação, devido à massa seca ser muito semelhante entre as duas amostras, foi completada para a amostra B₁, de forma a garantir o mesmo número de mols de H₃O⁺ para a reação durante a extração. Assim, para ambas as amostras foram utilizados 17,1 mL de solução de H₂SO₄ 0,1 mol.L⁻¹, sendo acrescentados 2,5 mL da solução de H₂SO₄ na amostra B₁.

Para a amostra B₂, a titulação foi realizada da mesma maneira que a amostra B₁, porém não houve adição corretiva da solução de ácido sulfúrico, sendo obtido um volume final de 14,4 mL ao atingir pH = 2 da mistura.

As variáveis estudadas neste teste são e os resultados de extração da pectina são encontrados, respectivamente, nas Tabelas 21 e 22.

Tabela 21: Teste 6: Volume de água e solução de ácido utilizados

ID	M.U. (g)	M.S. (g)	V H ₂ O destilada (mL)	V H ₂ SO ₄ (mL)	pH ₀	pH ajustado	pH _f
A	-	1,6625	150	17,1	5,1	2	2,2
B1	5,5643	1,6443	150	14,6 + 2,5*	5,6	2	2,1
B2	5,5761	1,6477	150	14,4	5,6	2	2,3

M.S. = Massa seca; V = Volume; pH₀ = pH inicial da mistura; pH_f = pH final após a extração.

Tabela 22: Teste 6: Massa seca e percentual de pectina nas alíquotas

ID	T (g)	M.S. + T (g)	M.S. (g)	P (%)
A	1,0145	1,3320	0,3175	19,10
B1	1,0212	1,2348	0,2136	12,99
B2	1,0191	1,2455	0,2264	13,74

M.S. = Massa seca; T = Tara; P = Pectina.

Os testes aqui apresentados não possuem um número de repetições mínimo para a elaboração de uma análise de variância, porém apresentam uma tendência. Ao comparar a eficiência de extração da amostra seca e pulverizada com a amostra úmida e triturada, observa-se uma diferença percentual que compreende a uma variação de aproximadamente 20%. Tal efeito pode ser evidenciado e comprovado através do teste de tamanho de partículas, o qual indicou que partículas de menor dimensionamento apresentam melhor eficiência de extração da pectina.

Como a avaliação do pH apresentou uma tendência positiva na extração da pectina, o teste 1 do preparo da amostra foi repetido, agora com o pH da mistura corrigidos de maneira padronizada. O resultado obtido com a correção do pH do teste 1 foi aproximadamente 30% superior ao obtido sem o ajuste do pH.

O teste 2 também foi repetido com o ajuste padronizado do pH. Os resultados obtidos entre os tratamentos foram igualmente inferiores aos citados na literatura, porém com uma variação menor, não diferindo entre os tratamentos.

Teste 7: Avaliação do tempo de extração.

Com o intuito de tornar a determinação da pectina menos prolongada, o tempo de extração da pectina foi estudado, de modo a comparar o método tradicional, utilizando 120 minutos, com o método proposto, utilizando 60 minutos.

Como o intuito do teste foi diminuir o tempo de extração, tempos superiores a 120 minutos não foram realizados.

A extração da pectina foi realizada conforme metodologia convencional, porém com o material úmido, sendo pesado o equivalente a 1,0 g do material seco, considerando a umidade da biomassa igual a 70,45%. Os resultados obtidos neste teste estão contidos na Tabela 23.

Vale ressaltar que este teste foi realizado já com a correção do pH de forma padronizada.

Tabela 23: Teste 7: Massa seca e percentual de pectina nas alíquotas

AMOSTRA			PECTINA			
ID	M.U. (g)	M.S. (g)	T (g)	M.S. + T (g)	M.S. (g)	P (%)
120 ^a	3,3829	0,9996	1,0216	1,1993	0,1777	17,78
120B	3,5513	1,0494	1,0051	1,1861	0,1810	17,25
120C	3,5091	1,0369	1,0096	1,2012	0,1916	18,48
					\bar{x}	17,84
					S	0,62
					CV	3,46
60 ^a	3,4566	1,0214	1,0104	1,1160	0,1056	10,34
60B	3,5014	1,0347	1,0156	1,1496	0,1340	12,95
60C	3,3767	0,9978	1,0291	1,1420	0,1129	11,31
					\bar{x}	11,53
					S	1,32
					CV	11,44

M.S. = Massa seca; T = Tara; P = Pectina; \bar{x} = Média; S = Desvio padrão; CV = Coeficiente de variação.

A análise de variância foi realizada para avaliar se houve diferença estatística entre os tratamentos.

ANOVA						
Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico
Entre grupos	59,5980	1	59,5980	56,1963	0,0017	7,7086
Dentro dos grupos	4,2421	4	1,0605			
Total	63,8402	5				

A análise de variância indica diferença entre os tratamentos, sendo que o tempo de extração de 60 minutos apresentou eficiência inferior ao tempo de 120 minutos, não sendo, portanto, viável a sua aplicação.

Teste 8: Avaliação da saturação do solvente.

Como o volume de reagentes está relacionado diretamente, na análise da pectina, com o volume da mistura solvente/amostra, devido às proporcionalidades m/v e v/v, o intuito deste teste foi minimizar custos, a quantidade de reagentes e, conseqüentemente, a quantidade de resíduos gerados por determinação.

As variáveis utilizadas no teste 8 são apresentados na Tabela 24, sendo estudados as relações m/v (massa de amostra / volume de solvente) 70:1, 1:50 e 1:30 para as amostra V1, V2 e V3, respectivamente.

Este teste foi realizado com a amostra úmida e correção padronizada no pH, que pode ser verificada através do pH final da mistura (pHf), que foi o mesmo para todas as alíquotas. A massa seca teórica da amostra foi obtida através da umidade média de 70,45% da amostra.

Tabela 24: Teste 8: Variáveis utilizadas

ID	M.U. (g)	V H2O (mL)	V H2SO4 (mL)	pH0	pHf	M.S. (g)
V1A	6,6763	200	17,5	5,8	2,0	1,9728
V1B	6,7061	200	16,8	5,8	2,0	1,9817
V1C	6,7463	200	16,5	5,7	2,0	1,9935
V2A	6,7659	100	10,9	5,8	2,0	1,9993
V2B	6,8084	100	9,7	5,7	2,0	2,0119
V2C	7,0770	100	11,9	5,8	2,0	2,0913
V3A	7,3571	60	10,3	5,4	2,0	2,1740
V3B	6,7178	60	8,0	5,4	2,0	1,9851
V3C	6,6925	60	8,9	5,8	2,0	1,9776

M.U. = Massa úmida; M.S. = Massa seca; V = Volume; pH0 = pH inicial da mistura; pHf = pH final após ajuste com solução de ácido sulfúrico 0,1 mol.L⁻¹.

Os resultados de extração da pectina, para os testes realizados, são encontrados na Tabela 25.

Tabela 25: Teste 8: Massa seca e percentual de pectina nas alíquotas

ID	T (g)	T + M.S. (g)	M.S. (g)	P (%)
V1A	1,0085	1,3776	0,3691	18,71
V1B	1,0262	1,4275	0,4013	20,25
V1C	1,0284	1,3939	0,3655	18,33
			\bar{x}	19,10
			S	1,02
			CV	5,32
V2A	1,0147	1,3828	0,3681	18,41
V2B	1,0091	1,3648	0,3557	17,68
V2C	1,0331	1,4381	0,4050	19,37
			\bar{x}	18,49
			S	0,85
			CV	4,58
V3A	1,0118	1,4189	0,4071	18,73
V3B	1,0151	1,3516	0,3365	16,95
V3C	1,0327	1,3888	0,3561	18,01
			\bar{x}	17,90
			S	0,90
			CV	5,00

M.S. = Massa seca; T = Tara; P = Pectina; \bar{x} = Média; S = Desvio padrão; CV = Coeficiente de variação.

A análise de variância para este teste é dada a seguir:

ANOVA						
Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico
Entre grupos	2,1602	2	1,0801	1,2688	0,3471	5,1432
Dentro dos grupos	5,1078	6	0,8513			
Total	7,2680	8				

Analisando o quadro de ANOVA, pode-se dizer que não houve diferença estatística entre os tratamentos, o que indica que a redução da razão m/v (massa da amostra / volume do solvente) pode ser aplicada sem causar falhas no resultado final.

4.4. Estudos da influência da compostagem na concentração de pectina

Após estabelecer os principais fatores de influência e definir uma metodologia padronizada para a determinação da pectina, foi possível analisar a influência do processo de compostagem na eficiência de extração da pectina.

Cabe salientar que este estudo teve como finalidade explorar o bioprocessamento em questão como uma etapa facilitadora para a extração da pectina do albedo cítrico, visando à química verde, ou seja, utilizando-se de menor uso de produtos químicos e energia.

As concentrações de carbono e nitrogênio, bem como a relação C/N encontrados nas amostras coletadas durante o processo da compostagem seguem na Tabela 26.

Tabela 26: Concentração de carbono e nitrogênio durante a compostagem

ID	C (%)	N (%)	C/N
26.06	38,98	1,18	33
27.06	37,88	1,25	30
28.06	37,41	1,22	31
29.06	38,69	1,22	32
03.07	38,57	1,50	26
11.07	38,26	1,47	26
10.08	38,82	2,45	16
04.09	33,47	2,75	12
26.09	27,41	3,18	9

O processo de compostagem apresenta uma primeira etapa onde ocorre maior consumo dos materiais de mais rápida degradação, geralmente no início do processo e pode ser observado pela elevação da temperatura da leira de compostagem devido ao metabolismo microbiano e ao escurecimento do material, devido às reações de Maillard.

Os resultados de extração da pectina obtidos com o processo de compostagem, que teve início no dia 26/06/2018, seguem expressos na Tabela 27.

Tabela 27: Massa seca e percentual de pectina nas alíquotas submetidas ao processo de compostagem

DATA	M.S.1 (g)	T (g)	M.S.2 + T (g)	M.S.2 (g)	P (%)
26.06	0,9883	1,0207	1,2973	0,2766	27,99
	0,9968	1,0275	1,2776	0,2501	25,09
	0,4891	1,0051	1,1363	0,1312	26,82
			\bar{x}		26,63
			S		1,46
			CV		5,47
27.06	0,9770	1,0123	1,2444	0,2321	23,76
	0,9966	1,0403	1,3094	0,2691	27,00
	0,4980	1,0151	1,1448	0,1297	26,04
			\bar{x}		25,60
			S		1,67
			CV		6,51
28.06	0,9890	1,0233	1,2519	0,2286	23,11
	0,9981	1,0198	1,2348	0,2150	21,54
	0,4964	1,0133	1,1368	0,1235	24,88
			\bar{x}		23,18
			S		1,67
			CV		7,21
29.06	0,5003	1,0220	1,1388	0,1168	23,35
	0,4969	1,0258	1,1495	0,1237	24,89
	0,5118	1,0250	1,1447	0,1197	23,39
			\bar{x}		23,88
			S		0,88
			CV		3,69
30.06	0,5019	1,0480	1,1693	0,1213	24,17
	0,4964	1,0324	1,1669	0,1345	27,10
	0,5121	1,0175	1,1328	0,1153	22,52
			\bar{x}		24,59
			S		2,32
			CV		9,43

M.S.1 = Massa seca da amostra; M.S.2 = Massa seca de pectina; T = Tara; P = Pectina; \bar{x} = Média; S = Desvio padrão; CV = Coeficiente de variação.

Foi realizada a análise variância para determinar se houve diferença estatística entre os tratamentos. O quadro de ANOVA a seguir apresenta os resultados obtidos:

ANOVA						
Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico
Entre grupos	22,4627	3	7,4876	3,5347	0,0681	4,0662
Dentro dos grupos	16,9464	8	2,1183			
Total	39,4091	11				

Ao analisar o quadro acima, pode-se dizer que não houve diferença na eficiência de extração da pectina entre os dias de exposição ao processo de compostagem, sendo possível afirmar que a pectina não foi degradada na primeira fase da compostagem, uma vez que o percentual de extração da pectina permaneceu inalterado durante essa fase.

O fato de não ter ocorrido a degradação da pectina entre os primeiros dias pode ser verificado, também, ao avaliar a Tabela 26, onde a concentração de carbono permaneceu praticamente inalterada. Tal fato realça as reações de Maillard, ou seja, verifica-se uma possível reação química entre a pectina e alguma proteína – houve transformação e não consumo.

Além do já citado, a amostra utilizada na compostagem apresenta, em sua composição, compostos inibidores, como é o caso dos óleos essenciais. A presença deste composto possivelmente atuou como antimicrobiano, não sendo possível a degradação imediata da matéria orgânica.

Os resultados de extração da pectina foram obtidos através da secagem, pulverização e ajuste do pH da mistura, o que permitiu uma extração adequada quando comparada com os valores citados na literatura.

Os principais fatores de influência da compostagem que, possivelmente, poderiam contribuir com algum benefício da extração da pectina são: 1) elevação da temperatura da leira; 2) liberação de ácido devido ao metabolismo microbiano e; 3) secagem do material e, portanto, concentração da pectina.

Para que fosse possível verificar se esses fatores de influência da compostagem apresentam alguma ação na eficiência de extração da pectina, a extração foi conduzida com e sem a secagem da amostra e com e sem a correção do pH da mistura.

Os resultados deste tratamento são encontrados na Tabela 28.

Tabela 28: Valor de extração da pectina com e sem secagem e correção do pH de amostras submetidas à compostagem

ID	Secagem	Correção do pH	P (%)	\bar{x}	S	CV
26.06	S	S	27,97	26,63	1,45	5,45
	S	S	25,09			
	S	S	26,83			
	N	N	7,4	7,24	0,44	6,11
	N	N	6,74			
	N	N	7,58			
30.06	S	S	24,17	24,59	2,31	9,41
	S	S	27,09			
	S	S	22,52			
	N	N	7,69	8,22	0,60	7,30
	N	N	8,09			
	N	N	8,87			

P = Pectina; \bar{x} = Média; S = Desvio padrão; CV = Coeficiente de variação.

A análise de variância para as amostras secas e com a correção do pH da mistura já foi apresentada e os resultados não diferem entre si. A análise de variância para as amostras úmidas e sem a correção do pH da mistura são apresentados no quadro a seguir:

ANOVA

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico
Entre grupos	1,4308	1	1,4308	5,1493	0,0858	7,7086
Dentro dos grupos	1,1115	4	0,2779			
Total	2,5423	5				

A análise de variância não apresentou diferença entre os tratamentos, mas, ao analisar os resultados obtidos, pode-se observar uma tendência na melhoria da eficiência de extração da pectina na amostra submetida a quatro dias do processo de compostagem, onde as médias de extração foram, respectivamente para a amostra inicial e para a amostra com quatro dias de processo de 7,24% e 8,22%, o que equivale a um aumento superior a 13%.

Apesar de representar aproximadamente um terço do valor ótimo de extração da pectina, o tratamento através da compostagem não exige a secagem da amostra, a correção do pH da mistura e representa um processo ambientalmente amigável.

A compostagem pode reduzir o tempo necessário para extração e reduzir a concentração dos reagentes usados, entretanto, maior número de amostras são necessárias para que tais afirmações sejam comprovadas.

Não obstante, o resíduo gerado após a extração da pectina poderia voltar ao processo de compostagem, sendo transformado num material inerte e com possível aplicabilidade agronômica, o que aumenta o seu ciclo de vida.

Dentre os fatores avaliados durante a etapa de extração da pectina, apresentou diferença significativa na eficiência de extração o tamanho das partículas e o ajuste do pH da mistura.

Outro fator que pode ser levantado é quanto a pureza do etanol. O estudo comprova que não há diferença estatística entre o uso de etano p.a. e etanol comercial para a coagulação da pectina, o que aponta para outro viés ambiental: a recuperação e reuso do etanol no processo.

A avaliação da saturação do solvente trouxe, também, um apelo ambiental ao processo. Devido à utilização de relações m/v (massa de amostra / volume de solvente) e v/v (volume de solução péctica / volume de etanol), quanto menores forem essas relações, menor será a utilização de reagentes durante a análise e, conseqüentemente, menor geração de resíduos por determinação.

5. CONCLUSÃO

O presente trabalho traz como conclusão, a proposição de uma nova metodologia para a determinação da pectina do bagaço da laranja. A aplicação dos estudos realizados foi fundamental para que esta proposta pudesse ser elaborada. A nova proposição visa assegurar um ambiente seguro e saudável a todos, de modo a consumir menos insumos e garantir o máximo de eficiência de extração da pectina.

A Tabela 29 compara as principais alterações entre o método convencional com o método proposto.

Tabela 29: Principais alterações entre o método convencional e o método proposto para a determinação da pectina proveniente do bagaço da laranja

ETAPA	CONVENCIONAL	PROPOSTO
Secagem da amostra	Secar a amostra até umidade $\leq 12\%$ em estufa a 60°C	Não é necessária a secagem da amostra
Pesagem	Pesar 2 g do material seco	Pesar o equivalente a 0,5 g do material seco
Dissolução	Adição de água destilada na relação 1:70 (m/v) ¹	Adição de água destilada na relação 1:30 (m/v) ¹
Adição de etanol	Adição de etanol p.a. na relação 1:2 (v/v) ²	Adição de etanol comercial ou reciclado na relação 1:1 (v/v) ²

¹Razão entre a massa da matéria-prima seca e volume de água destilada.

²Razão entre o volume de sobrenadante e volume de etanol

A proposta da utilização da compostagem como etapa facilitadora para a obtenção de subprodutos, em sua primeira etapa de degradação, não apresentou variações significativas para a extração da pectina do bagaço da laranja.

É válido ressaltar que a pectina não foi degradada nesta primeira etapa, possivelmente devido às reações de Maillard e a presença de óleo essencial característico da amostra de citros. Tal fato não descarta a viabilidade de utilização da compostagem, em outra fase de maturação, como uma etapa facilitadora para a obtenção de subprodutos.

REFERÊNCIAS

- 1 EMBRAPA. **Agroindústria**. Brasília, DF: Embrapa Parque Estação Biológica, 2018. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/grandes-contribuicoes-para-a-agricultura-brasileira/agroindustria>>. Acesso em: 04 ago. 2018.
- 2 BRASIL. Governo do Brasil. **Agronegócio impulsiona avanço do PIB do 1º trimestre, aponta IBGE**. Brasília, DF, 2018. Disponível em: <<http://www.brasil.gov.br/noticias/economia-e-financas/2018/05/agronegocio-impulsiona-avanco-do-pib-no-1-trimestre-aponta-ibge>>. Acesso em: 7 ago. 2018.
- 3 SANTOS, G. R. Agroindústria no Brasil: um olhar sobre indicadores de porte e expansão regional. **Radar. Tecnologia, Produção e Comércio Exterior**, Brasília, DF, n. 31, p. 7-19, 2014.
- 4 INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. **Pesquisa Industrial Anual – 2016**. Rio de Janeiro, 2016.
- 5 FIESP/CIESP. **Panorama da indústria de transformação brasileira**. 16. ed. São Paulo: FIESP/CIESP, Departamento de Economia, Competitividade e Tecnologia, 2018.
- 6 BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Exportações do agronegócio garantiram superávit da balança comercial**. Brasília, DF, 2018. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/noticias/exportacoes-do-agro-garantiram-superavit-da-balanca-comercial>>. Acesso em: 23 set. 2018.
- 7 INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. **Pesquisa mensal de previsão e acompanhamento das safras agrícolas no ano civil**. Rio de Janeiro, 2017. 81 p. (Levantamento Sistemático da Produção Agrícola, 30).
- 8 CLAUDINO, E. S.; TALAMINI, E. Análise do Ciclo de Vida (ACV) aplicada ao agronegócio - Uma revisão de literatura. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 17, n. 1, p. 77-85, 2013.
- 9 SCHNEIDER, V. E. et al. **Diagnóstico dos resíduos orgânicos do setor agrossilvopastoril e agroindústrias associadas**: relatório de pesquisa. Brasília; DF: Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada (IPEA), 2012. 134 p.
- 10 CENTRO DE ESTUDOS AVANÇADOS EM ECONOMIA APLICADA – CEPEA. **PIB do Agronegócio Brasileiro**. Piracicaba: USP/ESALQ/LES/CEPEA, 2018. Disponível em: <<https://www.cepea.esalq.usp.br/br/pib-do-agronegocio-brasileiro.aspx>>. Acesso em: 23 set. 2018.
- 11 BRASIL. Lei nº 12.305, de 2 de agosto de 2010. Institui a Política Nacional de Resíduos Sólidos; altera a Lei no 9.605, de 12 de fevereiro de 1998; e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 3 ago. 2010.

- 12 SOUZA, F. A. et al. **Compostagem**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2001. 10 p. (Comunicado Técnico, 50).
- 13 VALENTE, B. S. et al. Fatores que afetam o desenvolvimento da compostagem de resíduos orgânicos. **Archivos de Zootecnia**, Córdoba, v. 58, n. 1, p. 59-85, 2009.
- 14 TANG, J. C.; KANAMORI, T.; INQUE, Y. Changes in the microbial community structure during thermophilic composting of manure as detected by quinone profile method. **Process Biochemistry**, Barking, v. 39, p. 1999-2006, 2004.
- 15 EMBRAPA. **Manejo fitossanitário em cultivos orgânicos**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2012.
- 16 NEVES, M. F.; TROMBIM, V. G. **Anuário da citricultura 2017**. São Paulo: CITRUS BR, 2017.
- 17 BARROS, J. R. M.; BARROS, A. L. M.; CYPRIANO, M. P. **O Mercado da Citricultura no Brasil e suas Novas Perspectivas**. São Paulo: CITRUS BR, 2016.
- 18 NEVES, M. F. et al. **O retrato da citricultura brasileira**. São Paulo: CITRUS BR, 2010.
- 19 EMBRAPA. Bases de Dados. **Tabela. Produção brasileira de laranja em 2017**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2018. Disponível em: <http://www.cnpmf.embrapa.br/Base de Dados/index_pdf/dados/brasil/laranja/b1_laranja.pdf>. Acesso em: 23 set. 2018.
- 20 ARANHA, C. P. M. **Caracterização dos óleos extraídos de sementes de laranjas (*Citrus sinensis*) como aproveitamento de resíduos agroindustriais**. 2011. 75 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência dos Alimentos) - Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, São José do Rio Preto, 2011.
- 21 FERREIRA-LEITAO, V. et al. Biomass residues in Brazil: availability and potential uses. **Waste and Biomass Valorization**, Dordrecht, v. 1, n. 1, p. 65-76, 2010.
- 22 NEGRO, V. et al. Citrus waste as feedstock for bio-based products recovery: Review on limonene case study and energy valorization. **Bioresource Technology**, Barking, v. 214, n. 1, p. 806-815, 2016.
- 23 ZANELLA, K. **Extração da pectina da casca da laranja-pera (*Citrus sinensis* L. Osbeck) com solução diluída de ácido cítrico**. 2013. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Química, Campinas, 2013.
- 24 BAMPIDIS, V. A.; ROBINSON, P. H. Citrus by-products as ruminant feed: a review. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 128, n. 3-4, p. 175-217, 2006.

25 BIZZO, H. R.; HOVELL, A. M. C.; REZENDE, C. M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 3, p. 588-594, 2009.

26 CANTERI, M. H. G. et al. Pectina: da matéria-prima ao produto final. **Polímeros**, São Carlos, v. 22, n. 2, p. 149-157, 2012.

27 BLEY JUNIOR, C. A gestão de resíduos sólidos orgânicos. In: ENCONTRO NACIONAL DE LIMPEZA PÚBLICA - ABLP 25 ANOS, 1998, São Paulo. **Anais...** São Paulo: ABL, 1998. v. 1, p. 81-95.

28 KIEHL, E. J. **Manual de compostagem**: maturação e qualidade do composto. Piracicaba: Ed. do Autor, 1998. 17 p.

29 ECOCHEM. **Composting process**. Alberta, Canada, 2004. Disponível em: <http://www.Ecochem.com/t_compost_fa2.html>. Acesso em: 22 set. 2018.

30 CARREAS, N. **O biogás**. Vienna: Observatório de Energias Renováveis para a América Latina e o Caribe - ONUDI, 2013. 151 p.

31 SILVA, F. C. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. 2. ed. rev. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2009. 627 p.

32 SKOOG; WEST; HOLLER; CROUCH. **Fundamentos de Química Analítica**, tradução da 8ª Edição norte-americana, Editora Thomson, São Paulo – SP, 2006. 1124 p.

33 USEPA. **Method 3051 A**. 2007. Disponível em: <<https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-12/documents/3051a.pdf>>. Acesso em 03 jan. 2019.

34 ROCHA, P. S. M. **Determinação de cobre e manganês em néctares e sucos industrializados por espectrofotometria e absorção atômica com forno de grafite**. 2016. Monografia (Graduação em Química Bacharelado) – Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2016.