

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

Departamento de Ciência de alimentos

**Estabilidade de carotenóides, flavonóides e vitamina C em
alimentos submetidos às tecnologias emergentes de
processamento**

José Emilson Macêdo Ferreira
Engenheiro Agrônomo
Mestre em Ciência de Alimentos

Profa. Dra. Delia B. Rodriguez-Amaya
Orientadora

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de
Campinas, para obtenção do título de Doutor em Ciência de Alimentos.

Campinas – SP

2011

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FEA – UNICAMP**

F413e Ferreira, José Emilson Macêdo
Estabilidade de carotenóides, flavonóides e vitamina C
em alimentos submetidos às tecnologias emergentes de
processamento / José Emilson Mâcedo Ferreira. --
Campinas, SP: [s.n], 2011.

Orientador: Delia B. Rodriguez-Amaya
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1. Carotenóides. 2. Flavonóides. 3. Vitamina C. 4.
Microencapsulação. 5. Alta Pressão. 6. Microfiltração.
I. Rodriguez-Amaya, Delia B. II. Universidade Estadual
de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. III.
Título.

cars/bibfea

Título em inglês: Stability of carotenoids, flavonids and vitamin C in foods
subjected to emerging processing technologies

Palavras-chave em inglês (Keywords): Carotenoids, Flavonoids, Vitamin C,
Microencapsulation, High pressure,

Microfiltration

Titulação: Doutor em Ciência de Alimentos

Banca examinadora: Delia B. Rodriguez-Amaya

Flavio Luis Schmidt

Helena Teixeira Godoy

Marcia Cristina Teixeira Martins

Rosemary Hoffmann Ribani

Data da Defesa: 28/02/2011

Programa de Pós Graduação em Ciência de Alimentos.

Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida em 28/02/2011 por José
Emilson Macêdo Ferreira. Aprovada pela comissão julgadora em ____/____/2011.

Banca examinadora

Prof a. Dra. Delia B. Rodriguez-Amaya
(Orientadora)

Prof. Dr. Flávio Luís Schmidt

Profa. Dra. Helena Teixeira Godoy

Profa.Dra. Márcia Cristina Teixeira Martins

Profa. Dra. Rosemary Hoffmann Ribani

Prof. Dr. Carlos Raimundo Ferreira Grosso

Dra. Cristiane Hess de Azevedo Meleiro

Profa. Dra. Mieko Kimura

A sabedoria, porém, lá do alto é,
primeiramente, pura; depois,
pacífica, indulgente, tratável,
plena de misericórdia e de bons
frutos, imparcial, sem fingimento.
(Tiago, 3:17).

Ao meu pai, *in memoriam*, **José Galdino Ferreira**,
agricultor brasileiro que sempre acreditou no Brasil.

A minha mãe **Nelzi**, companheira e amiga, de quem
compartilho o amor materno.

Aos meus **irmãos e irmãs**, pelo apoio e conselhos.

Aos meus **familiares e amigos** pelo convívio
fraterno e muitas alegrias.

Aos meus **professores**, verdadeiros educadores que
me levaram a chegar a este patamar.

Dedico esta etapa de minha vida.

Agradecimentos

A **Deus**, meu pai eterno, de amor puro e verdadeiro, amigo sempre presente nas aflições. Pela vitória alcançada e sua infinita misericórdia.

À minha mãe **Nelzi** e meus irmãos **Raquel, Ely, Ekener** e **Rosângela**, pelo apoio incondicional em meus objetivos traçados. Aos meus **sobrinhos** e **sobrinhas** pelo amor e carinho. Vocês são meus referenciais de família. A minha futura **esposa** e **filhos**, que o Senhor preparou para mim.

À professora **Delia** Rodriguez-Amaya, pela orientação, carinho e atenção. Obrigado pelo privilégio dos ensinamentos que levarei por toda minha vida profissional.

Aos membros da banca, **Flávio** Luis Schmidt, **Helena** Texeira Godoy, **Márcia** Cristiana Texeira Martins, **Rosemary** Hoffmann Ribani, **Carlos** Raimundo Ferreira Grosso, **Cristiane** Hess Azevedo-Meleiro e **Mieko** Kimura, por aceitarem participar da banca e pelas relevantes sugestões e correções na redação da tese.

A todos os amigos que trabalharam no Laboratório de Carotenóides, neste período **Márcia** (pela amizade cheia de palavras puras e verdadeiras), **Aline** (pelos momentos de oração), **Giovanna** (pela amizade e amor fraterno), **Cíntia** (pela motivação dispensada), **Natália** (pelo exemplo de que tudo pode mudar), **Michelle** (pelo carinho e amizade), **Renato** (pelo exemplo de persistência), **Lísia** (pela amizade e carinho). Estes anos de minha vida em que convivemos juntos não serão esquecidos. Momentos de tribulações e de alegrias, mas aprendi a conviver e a amar a todos vocês.

À **Faculdade de Engenharia de Alimentos** da UNICAMP pelo privilégio de ser seu aluno no Programa de Doutorado em Ciência de Alimentos e a **CAPES** pelo suporte financeiro.

Ao **Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia – Campus Vitória**, pela liberação e bolsa de estudo. Aos professores da Agroindústria pelo suporte no Curso durante a minha ausência.

À funcionária e amiga **Renata**, enviada por Deus para o Laboratório em um momento importante para mim. As palavras aqui escritas não alcançam o muito que me ajudaste, tornando o laboratório um lugar agradável de trabalhar. À funcionária e amiga **Débora** pelo carinho e pela colaboração em muitos momentos.

Aos demais **funcionários** e **professores** da Tecnologia de alimentos, da Engenharia química, da Física, da Nutrição e da Engenharia de Alimentos. O meu muito obrigado pela atenção e ajuda.

Aos **irmãos** da Igreja, pelos momentos maravilhosos na presença do Senhor e em especial a irmã **Edna** pela amizade e ajuda neste período. Ao Pastor **Alberto** e sua esposa **Rosângela** pelas orações, ensinamentos e amor.

A **todos** que de alguma forma contribuíram para que este trabalho fosse concluído.

Agradeço imensamente a **Deus** que em sua infinita bondade colocou em minha vida pessoas tão especiais como vocês.

Índice

RESUMO GERAL	xxi
GENERAL SUMMARY	xxiii
INTRODUÇÃO GERAL	xxv
CAPÍTULO 1: MICROENCAPSULAÇÃO DE CAROTENÓIDES – UMA REVISÃO	1
RESUMO.....	2
ABSTRACT.....	3
1. INTRODUÇÃO.....	4
2. TÉCNICAS DE MICROENCAPSULAÇÃO.....	5
3. MICROENCAPSULAÇÃO POR <i>SPRAY DRING</i> DE CAROTENÓIDES PADRÕES OU ISOLADOS.....	8
4. MICROENCAPSULAÇÃO POR <i>SPRAY DRYING</i> DE EXTRATOS CAROTENOGÊNICOS.....	11
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	16
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	17
CAPÍTULO 2: EFEITOS DE PROCESSAMENTO SOB ALTA PRESSÃO HIDROSTÁTICA NOS CAROTENÓIDES DE ALIMENTOS - UMA REVISÃO	27
RESUMO.....	28

ABSTRACT.....	29
1. INTRODUÇÃO.....	30
2. TÉCNICAS DE PROCESSAMENTO DE ALTA PRESSÃO.....	31
3. RETENÇÃO DE CAROTENÓIDES EM POLPA DE FRUTAS PROCESSADAS SOB ALTA PRESSÃO HIDROSTÁTICA	34
4. RETENÇÃO DE CAROTENÓIDES EM FRUTAS E HORTALIÇAS SUBMETIDAS À ALTA PRESSÃO HIDROSTÁTICA	36
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	40
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	40
CAPÍTULO 3: COMPORTAMENTO DE COMPOSTOS BIATIVOS EM MICROFILTRAÇÕES DE ALIMENTOS - UMA REVISÃO.....	49
RESUMO.....	50
ABSTRACT.....	51
1. INTRODUÇÃO.....	52
2. LIMITAÇÕES DA MICROFILTRAÇÃO.....	53
3. RETENÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS NA MICROFILTRAÇÃO DE ALIMENTOS.....	59
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	63
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	63

CAPÍTULO 4: OTIMIZAÇÃO DA MICROENCAPSULAÇÃO POR <i>SPRAY DRYING</i> DA POLPA DE PITANGA (<i>Eugenia uniflora</i> L.). RETENÇÃO DE CAROTENÓIDES E FLAVONÓIDES.....	71
RESUMO.....	72
ABSTRACT.....	73
1. INTRODUÇÃO.....	74
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	76
2.1. Amostras e materiais de parede.....	76
2.2. Reagentes e padrões.....	76
2.3. Delineamento Experimental.....	76
2.4. Preparação dos Ensaios e Secagem em <i>Spray-drying</i>	77
2.5. Caracterização morfológica e distribuição e tamanho das microcápsulas.....	78
2.6. Determinação do teor de umidade.....	78
2.7. Determinação de carotenóides na polpa de pitanga e em toda a microcápsula.....	78
2.8. Determinação dos carotenóides na superfície externa das microcápsulas.....	79
2.9. Eficiência na microencapsulação.....	79
2.10. Determinação de flavonóides.....	79
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	81
3.1. Morfológica e distribuição e tamanho das microcápsulas.....	81
3.2. Otimização da microencapsulação por <i>spray drying</i>	83
4. CONCLUSÃO.....	92
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	92

CAPÍTULO 5: ESTABILIDADE DOS CAROTENÓIDES E FLAVONÓIDES DURANTE A ESTOCAGEM DA POLPA DE PITANGA (<i>Eugenia uniflora</i> L.) MICROENCAPSULADA POR <i>SPRAY DRYING</i>.....	97
RESUMO.....	98
ABSTRACT.....	99
1. INTRODUÇÃO.....	100
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	101
2.1. Amostras e materiais de parede.....	101
2.2. Reagentes e padrões.....	101
2.3. Delineamento experimental.....	102
2.4. Preparação do experimento e secagem em <i>spray drying</i>	102
2.5. Estudo da estabilidade de carotenóides e flavonóides da polpa de pitanga microencapsulada.....	102
2.6. Determinação do teor de umidade e atividade de água.....	103
2.7. Determinação de carotenóides em toda a microcápsula.....	103
2.8. Determinação dos carotenóides na superfície externa das microcápsulas.....	104
2.9. Determinação de flavonóides.....	104
3. RESULTADOS E DICUSSÕES.....	105
3.1. Estabilidade dos carotenóides e flavonóides microencapsulados por <i>spray drying</i>	105
4. CONCLUSÃO.....	113
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	113

CAPÍTULO 6: EFEITO DA ALTA PRESSÃO HIDROSTÁTICA NOS CAROTENÓIDES DA POLPA DE CAJÁ (<i>Spondias lutea L.</i>).....	117
RESUMO.....	118
ABSTRACT.....	119
1. INTRODUÇÃO.....	120
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	122
2.1. Amostras e tratamento por alta pressão hidrostática.....	122
2.2. Reagentes e padrões.....	122
2.3. Planejamento Experimental.....	123
2.4. Determinação de carotenóides.....	124
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	125
4. CONCLUSÃO.....	127
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	130
CAPÍTULO 7: MICROFILTRAÇÃO DE POLPA DE TOMATE, GOIABA E PITANGA – COMPORTAMENTO DOS COMPOSTOS BIATIVOS.....	137
RESUMO.....	138
ABSTRACT.....	139
1. INTRODUÇÃO.....	140
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	141
2.1. Amostras e enzimas.....	141
2.2. Reagentes e padrões.....	141

2.3. Delineamento Experimental.....	142
2.4. Microfiltração.....	142
2.5. Determinação de carotenóides.....	142
2.6. Determinação de flavonóides.....	144
2.7. Determinação de vitamina C.....	145
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	146
4. CONCLUSÃO.....	149
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	149
CONCLUSÕES GERAIS.....	153

Índice de Tabelas

CAPITULO 1	1
Tabela 1. Parâmetros técnicos, cinéticos e resultados principais da microencapsulação por <i>spray drying</i> de carotenóides isolados.....	9
Tabela 2. Parâmetros técnicos e resultados principais da microencapsulação por <i>spray drying</i> de extratos carotenogênicos.....	12
CAPITULO 2	27
Tabela 1. Parâmetros técnicos e resultados principais em frutas processadas por APH.....	35
Tabela 2. Parâmetros técnicos e resultados principais da tecnologia de APH em hortaliças.....	37
CAPITULO 3	49
Tabela 1. Hidrólise enzimática em sucos de frutas, no pré-tratamento para microfiltração.....	57
Tabela 2. Parâmetros técnicos e resultados principais da tecnologia de microfiltração nos compostos bioativos em alimentos funcionais.....	60
CAPITULO 4	71
Tabela 1. Fatores e níveis (valores codificados entre parênteses) para o Delineamento Composto Central Rotacional.....	77
Tabela 2. Teores dos carotenóides nas microencapsulas (roale externo) de pitanga em diferentes materiais de parede.....	85

Tabela 3. Estimativa dos coeficientes de regressão do modelo polinomial quadrático e significância (p-valor) para as respostas da microencapsulação de polpa de pitanga em maltodextrina, amido modificado e goma arábica.....	86
Tabela 4. Equações que representam a resposta em função da temperatura de entrada no <i>spray dryer</i> (X_1) e da quantidade de polpa de pitanga (X_2) nas microcápsulas de maltodextrina, amido modificado e goma arábica.....	87
Tabela 5. Eficiência da microencapsulação por <i>spray drying</i> dos carotenóides da polpa de pitanga em maltodextrina, amido modificado e goma arábica.....	89
CAPITULO 5.....	97
Tabela 1. Parâmetros cinéticos da fotodegradação de carotenóides e flavonóides da polpa de pitanga microencapsulada e liofilizada.....	112
CAPITULO 6.....	117
Tabela 1 – Níveis codificados para as variáveis independentes do delineamento experimental aplicado a polpa de cajá processada a APH.....	123
Tabela 2 – Delineamento composto central rotacional (DCCR) na otimização das concentrações de carotenóides da polpa de cajá submetida à alta pressão hidrostática.....	126
Tabela 3. Estimativa dos coeficientes de regressão do modelo polinomial quadrático e significância (p-valor) para as respostas da tecnologia de alta pressão hidrostática na polpa de cajá.....	128
Tabela 4. Equações que representam a resposta em função da pressão hidrostática (X_1) e do tempo de pressurização (X_2).....	128

CAPITULO 7	137
Tabela 1 – Concentração de carotenóides, flavonóides e vitamina C em cada etapa do fluxograma de microfiltração de tomate, goiaba e pitanga.....	147

Índice de Figuras

CAPITULO 4	71
Figura 1. Micrografias obtidas em microscópico eletrônico de varredura de microcápsulas de polpa de pitanga obtidas por <i>spray drying</i> a 150°C, com 25% de polpa de pitanga e 75% maltodextrina (1), amido modificado (2) e goma arábica (3) em fundo escuro (a) e claro (b).....	82
Figura 2. Distribuição e o tamanho das microcápsulas de polpa de pitanga com maltodextrina (a), amido modificado (b) e goma arábica (c).....	83
Figura 3. Superfícies de resposta na retenção de licopeno total (a), β -caroteno total (b), β -criptoxantina total (c) e luteína total (d) de polpa de pitanga microencapsulada por <i>spray-drying</i> , usando maltodextrina (1), amido modificado - Capsul® (2) e goma arábica (3).....	88
Figura 4. Superfícies de resposta na retenção de miricetina (a), quercetina (b) e kaempferol (c) de polpa de pitanga microencapsulada por <i>spray-drying</i> , usando maltodextrina (1), amido modificado - Capsul® (2) e goma arábica (3).....	91
CAPITULO 5	97
Figura 1. Concentração de licopeno em polpa de pitanga (a) liofilizada, (b) microencapsulada em maltodextrina, (c) microencapsulada em amido modificado, (d) microencapsulada em goma arábica: total (◆) externo (▲) e interno (■).....	106
Figura 2. Concentração de β -criptoxantina em polpa de pitanga (a) liofilizada, (b) microencapsulada em maltodextrina, (c) microencapsulada em amido modificado, (d) microencapsulada em goma arábica: total (◆) externo (▲) e interno (■).....	107

Figura 3. Concentração de β -caroteno em polpa de pitanga (a) liofilizada, (b) microencápsulada em maltodextrina, (c) microencápsulada em amido modificado, (d) microencápsulada em goma arábica: total (◆) externo (▲) e interno (■).....	108
Figura 4. Concentração de luteína em polpa de pitanga (a) liofilizada, (b) microencápsulada em maltodextrina, (c) microencápsulada em amido modificado, (d) microencápsulada em goma arábica: total (◆) externo (▲) e interno (■).....	109
Figura 5. Concentrações de quercetina (■) miricetina (◆) e kaempferol (▲) em polpa de pitanga liofilizada (a) e nas microcápsulas de maltodextrina (b), amido modificado (c) e goma arábica (d).....	110
CAPITULO 6	117
Figura 1. Superfície de resposta das concentrações de β -criptoxantina (1), β -caroteno (2), α -caroteno (3) e luteína (4) total (a) <i>trans</i> (b) e <i>cis</i> (c) da polpa de cajá submetida à APH.....	129
CAPITULO 7	137
Figura 1. Esquema do equipamento de microfiltração (Clareto & García, 2007).....	143
Figura 2. Fluxograma da microfiltração de polpa de fruta.....	144

RESUMO GERAL

A implementação de novas tecnologias de processamento e o desenvolvimento de novos produtos amplia a necessidade de se estudar não apenas seus atributos sensoriais e sua vida de prateleira, mas também os seus aspectos nutricionais e funcionais.

Dentre estas tecnologias emergentes, o uso da microencapsulação na preservação dos carotenóides e flavonóides em alimentos durante o processamento e na estocagem do produto, focando os materiais de parede e as condições operacionais utilizadas foram objetos da revisão bibliográfica no primeiro capítulo.

No segundo capítulo, as técnicas de processamento sob alta pressão e seus possíveis efeitos na isomerização e degradação dos carotenóides em frutas e hortaliças foi o foco da pesquisa bibliográfica.

A microfiltração de sucos e polpas de frutas, suas limitações tecnológicas, a permeação e possíveis perdas de carotenóides, flavonóides e da vitamina C foram descritos na revisão do terceiro capítulo.

No quarto capítulo, a otimização da microencapsulação por *spray drying* da polpa de pitanga com maltodextrina, amido modificado e goma arábica, visando a maior retenção dos carotenóides e dos flavonóides, foi realizada por metodologia de superfície de resposta. As melhores retenções dos carotenóides e dos flavonóides no processamento por *spray drying* ocorreram na temperatura de entrada de 150°C, numa proporção de 25% de polpa e 75% de material de parede. A goma arábica apresentou a melhor eficiência na microencapsulação.

A estabilidade de carotenóides e flavonóides durante a estocagem das microcápsulas na temperatura ambiente e na presença de oxigênio e luz foi também investigada no

capítulo 5. A goma arábica promoveu a maior estabilidade dos compostos estudados durante a estocagem na presença de luz (345lux). A degradação de carotenóides seguiu uma cinética de primeira ordem e os flavonóides, a cinética de zero ordem.

O efeito da alta pressão hidrostática na polpa de cajá, na manutenção das formas *trans*-carotenóides ou na formação de *cis*-carotenóides é apresentado no capítulo 6. As polpas não pressurizadas e as pressurizadas não diferiram significativamente nas concentrações dos *trans*-carotenóides. As concentrações dos *cis*-isômeros foram significativamente maiores nas amostras pressurizadas, com exceção do β -caroteno. Acima de 400MPa e por mais de 15 minutos de pressurização, fica mais evidente a tendência de redução da forma *trans* em todos os carotenóides estudados e de modo inverso, uma elevação das concentrações de *cis*-carotenóides na polpa de cajá pressurizada.

No capítulo 7 são apresentados os resultados da microfiltração de polpas de goiaba, pitanga e tomate, onde as concentrações de carotenóides, flavonóides e da vitamina C foram quantificadas ao longo do fluxograma de processamento. Não houve a permeação dos carotenóides através da membrana filtrante. Mesmo com permeação dos flavonóides através das membranas, as concentrações no retentado foram duas vezes maiores para os três frutos em estudo, em relação as obtidas no permeado. O ácido ascórbico foi o composto que mais permeou. No entanto, houve perdas em todas as etapas de processamento.

GENERAL SUMMARY

The implementation of new processing technologies and the development of new products amplifies the necessity to study not only the sensory attributes and the shelf life, but also their nutritional and functional aspects.

Among these emerging technologies, the use of microencapsulation in the preservation of carotenoids and flavonoids in foods during processing and storage of the product, focalizing wall materials and the operating conditions used, were the objectives of the review of literature in first chapter.

In the second chapter, processing techniques at high pressure and their possible effects on the isomerization and degradation of carotenoids in fruits and vegetables were the focus of the literature review.

The microfiltration of juices and pulps, the technological limitations, the permeation and possible losses of carotenoids, flavonoids and vitamin C were described in the review of the third chapter.

In the fourth chapter, the optimization of microencapsulation by spray drying of the pulp of pitanga with maltodextrin, modified starch and gum Arabic, aiming at greater retention of carotenoids and flavonoids, was carried out by response surface methodology. The best retentions of both carotenoids and flavonoids in spray drying occurred at an inlet temperature of 150°C, at a proportion of 25% pulp and 75% wall material. Gum Arabic showed greater microencapsulation efficiency.

The stability of carotenoids and flavonoids during storage of the microcapsules at ambient temperature in the presence of oxygen and light was investigated in Chapter 5. Gum Arabic promoted greater stability of the compounds studied during storage in the

presence of light (345lux). The degradation of carotenoids followed first order kinetics and of flavonoids, zero order kinetics.

The effect of high hydrostatic pressure on the pulp of cajá, in retaining *trans*-carotenoid or in the formation of *cis*-carotenoid, is presented in Chapter 6. The unpressurized and pressurized pulps did not differ significantly in the concentrations of the *trans*-carotenoids. The concentrations of the *cis*-isomers were significantly higher in the pressurized samples, with the exception of β -carotene. Above 400MPa and for more than 15 minutes of pressurization, the tendency of the *trans*-form to decline for all the carotenoids studied, and conversely, the elevation of *cis*-carotenoids in the pressurized cajá pulp became more evident.

Chapter 7 presents the results of microfiltration of pulp from guava, pitanga and tomato, in which the concentrations of carotenoids, flavonoids and vitamin C were determined along the processing flow diagram. There was no permeation of carotenoids through the filtering membrane. Although flavonoids permeated through the membrane, the concentrations in the retentate were twice those of the permeate, for all three fruits studied. Ascorbic acid permeated more, but there were losses in all the processing steps.

INTRODUÇÃO GERAL

Novos processos de transformação e conservação de alimentos com baixos custos operacionais e reduzidos impactos ambientais estão sendo pesquisados em todo o mundo com o intuito de atender a demanda de mercados globalizados e competitivos, onde os consumidores são cada vez mais exigentes e com necessidades específicas.

As tecnologias convencionais de processamento e conservação de alimentos apresentam limitações relacionadas à manutenção das qualidades nutricionais, funcionais e sensoriais de suas matérias-primas. Tecnologias emergentes, tais como alta pressão hidrostática, pulsos elétricos, luz pulsante, aquecimento ôhmico, extração supercrítica, filtração por membranas e microencapsulação estão sendo introduzidas com a esperança de otimizar estas qualidades no produto final ao mesmo tempo mantendo ou aumentando sua vida de prateleira.

Neste contexto, os alimentos funcionais merecem destaque por apresentarem compostos bioativos, muitos dos quais sensíveis, reativos e sujeitos a perdas no processamento e na estocagem do produto. A escolha adequada da tecnologia, bem como o estabelecimento dos parâmetros dos processos tecnológicos deve nortear a aplicação das novas tecnologias para garantir e preservar a qualidade funcional dos alimentos. Algumas destas tecnologias já são realidades comerciais e a indústria tem usufruído benefícios oriundos de tecnologias como a microencapsulação, a alta pressão hidrostática (APH) e a microfiltração (MF), visando a preservação das qualidades sensoriais, nutricionais e funcionais dos alimentos.

A tecnologia da microencapsulação tem sido amplamente usada na proteção de substâncias ativas, com numerosas aplicações na indústria farmacêutica. Em alimentos, o

seu uso é recente, mas com perspectiva de importante aplicação. Os estudos estão avançados em relação aos compostos responsáveis pelos aromas, mas ainda limitados em termos de pigmentos naturais e fitoquímicos bioativos.

O processamento de alimentos utilizando a tecnologia de APH promove a inativação de microrganismos e enzimas, com a vantagem de resultar em menor alteração de sabor e de degradação de nutrientes quando comparada à pasteurização térmica tradicional. Sucos de frutas submetidos a APH tendem a apresentar características nutritivas, funcionais e sensoriais mais próximas do produto natural, quando comparados ao produto tratado termicamente.

A MF é uma tecnologia que utiliza membranas filtrantes como uma alternativa aos processos tradicionais de clarificação e concentração com a vantagem de não utilizar temperaturas elevadas, reduzindo o consumo de energia, e preservando as características sensoriais e nutricionais dos produtos.

Com a implementação destas tecnologias emergentes pelas indústrias de alimentos e diante de consumidores cada vez mais preocupados com alimentos processados os mais próximos dos produtos *in natura*, este trabalho teve por objetivos: (a) Otimizar as condições de microencapsulação da polpa de pitanga, visando maior retenção de carotenóides e flavonóides; (b) avaliar a estabilidade dos carotenóides e flavonóides em polpa de pitanga microencapsulada, durante o armazenamento do produto; (c) avaliar os efeitos da alta pressão hidrostática nos carotenóides da polpa de cajá; (d) avaliar o comportamento de carotenóides, flavonóides e vitamina C durante a microfiltração de frutas tropicais.

CAPÍTULO 1

Microencapsulação de carotenóides – uma revisão

José Emilson Macêdo Ferreira e Delia B. Rodriguez-Amaya

Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos,
Departamento de Ciência de Alimentos, Campinas, SP, Brasil.

RESUMO

Há um substancial conjunto de evidências científicas que associam o alto consumo de frutas e hortaliças com a redução de risco de se desenvolver doenças crônicas não transmissíveis como alguns tipos de câncer e doenças cardiovasculares. Dentre os compostos bioativos encontrados nestes alimentos destacam-se os carotenóides por serem corantes naturais e atuarem no sequestro de oxigênio singlete e de radicais livres, além de outros modos de ação contra estas doenças. A tecnologia de microencapsulação parece promissora na retenção destes constituintes, desde que se observem parâmetros tecnológicos adequados e se utilizem materiais de parede apropriados. A estabilidade e a cinética de degradação destes compostos microencapsulados estão relacionadas com o tamanho das microcápsulas (partículas de diâmetros menores apresentam maiores áreas superficiais) e com a quantidade de carotenóides presentes nas superfícies externas das microcápsulas, sendo parâmetros chaves na sua proteção frente à ação de agentes ambientais responsáveis pela degradação.

Palavras chave: Microencapsulação; *spray drying*; carotenóides.

ABSTRACT

There is substantial scientific evidence that associates high consumption of fruits and vegetables with the reduction of the risk of developing degenerative diseases such as certain types of cancer and cardiovascular diseases. Among the bioactive compounds encountered in these foods, the carotenoids are notable for being natural pigments capable of sequestering singlet oxygen and scavenging free radicals, aside from other modes of action against degenerative diseases. The technology of microencapsulation appears promising in the retention of these constituents, provided adequate technological parameters are observed and appropriate wall materials are utilized. The stability and degradation kinetics of the microencapsulated compounds are related to size distribution of the microcapsules (particles with lower diameters have greater superficial areas) and the quantity of these compounds in the external surface of the microcapsules, these being the key parameters in their protection against the action of environmental agents responsible for the degradation.

Key words: Microencapsulation, spray drying, carotenoids

1. INTRODUÇÃO

Na dieta humana, os vegetais fornecem vitaminas, minerais e fibras importantes para a manutenção da saúde. Estes alimentos contêm ainda compostos bioativos que proporcionam benefícios à saúde, além da nutrição básica. Trata-se de compostos biologicamente ativos com potencial de prevenir ou reduzir riscos de algumas doenças crônicas não transmissíveis (AGUDO *et al.*, 1997; MATTHEW *et al.*, 1997; THOMSON *et al.*, 2002; SKULADOTTIR *et al.*, 2006; DAI *et al.*, 2006; DOSIL-DÍAZ *et al.*, 2008; MIRMIRAN *et al.*, 2009). Estudos epidemiológicos evidenciam a associação entre o alto consumo de frutas e hortaliças com o baixo risco de se acometer de doenças cardiovasculares (D'ODORICO *et al.*, 2000), degeneração macular e catarata (RICHER *et al.*, 2004), alguns tipos de câncer (HUNG *et al.*, 2006; KIM *et al.*, 2007), obesidade (SUZUKI *et al.*, 2006), osteoporose (MAGGIO *et al.*, 2006), e sarcopenia ou perda de massa muscular e força em idosos (SEMBA *et al.*, 2007).

Entre os fitoquímicos estão incluídos os carotenóides, que são pigmentos naturais responsáveis pelas cores amarela, laranja e vermelha e distribuídos em frutas, raízes, flores, crustáceos e algumas aves e peixes. Eles atuam no sequestro do oxigênio singlete (KRINSKY, 2001) e reagem com radicais livres (POLYAKOV *et al.*, 2001; KRINSKY e YEUM, 2003) por apresentarem um sistema extenso de duplas ligações conjugadas. Estas insaturações, no entanto, os tornam instáveis dependendo do ambiente biológico onde atuam (polaridade do meio, tipo de matriz) e da presença de oxigênio, luz e calor (RIETJENS *et al.* 2002; EL-AGAMEY *et al.* 2004).

O termo microencapsulação é usado para designar um conjunto de tecnologias que envolvem substâncias dentro de uma matriz ou parede polimérica (KISSEL *et al.*, 2006) e

se mostram promissoras na preservação dos componentes bioativos dos alimentos funcionais diante das condições adversas do ambiente.

A definição dos aspectos tecnológicos envolvidos na microencapsulação de carotenóides, as técnicas utilizadas, os parâmetros cinéticos durante a estocagem do produto e o estudo dos tipos de matérias de parede utilizados são o foco desta revisão bibliográfica.

2. TÉCNICAS DE MICROENCAPSULAÇÃO

As técnicas de microencapsulação têm sido amplamente usadas na indústria farmacêutica, química e de produtos agrícolas. Na indústria de alimentos seu uso é mais recente e visam proteger os nutrientes e compostos bioativos contra possíveis perdas e estender a vida de prateleira, além de mascarar sabores, cores e odores (ANAL e SINGH, 2007). O mecanismo de proteção exercido se dá por conta da formação de membranas ou sistemas de paredes, que envolvem gotas ou partículas de material microencapsulado ou recheio (SHU *et al.*, 2006).

O desenvolvimento da tecnologia de microencapsulação e a pesquisa de novos materiais aumentaram significativamente o número de produtos alimentícios com componentes encapsulados (GIBBS *et al.*, 1999). Embora muitas técnicas tenham sido desenvolvidas para a microencapsulação (*spray-cooling, spray-chilling, fluidized-bed coating, extrusion, coacervation, centrifugal extrusion, lyophilization, centrifugal suspension separation and co-crystallization*), *spray drying* é a tecnologia mais comum usada pela indústria de alimentos devido ao seu baixo custo e disponibilidade de equipamentos (GHARSALLAOUI *et al.*, 2007), além de converter alimentos fluidos, como os óleos comestíveis, em pós de fácil manuseio (DESAI e PARK, 2005).

Nas pesquisas com alimentos carotenogênicos, foram utilizadas predominantemente as tecnologias de microencapsulação por *freeze-drying*, gelificação ionotrópica, evaporação múltipla de solvente/emulsão, inclusão molecular e *spray drying*.

A microencapsulação por *freeze-drying* ou liofilização consiste na sublimação da água da mistura de material de parede com o alimento carotenogênico, extrato ou carotenóides isolados ou padrões. Esta tecnologia apresenta a vantagem de não utilizar temperaturas altas durante o processo de microencapsulação. TANG e CHEN (2000) utilizaram esta técnica na microencapsulação da luteína, α -caroteno e β -caroteno extraídos de polpa de cenoura. Durante a estocagem, o incremento na temperatura e no tempo de iluminação elevou a isomerização dos três carotenóides. Nas microcápsulas mantidas no escuro, houve a predominância da formação do 13-*cis*-carotenóide e na presença da luz (1500Lux) do 9-*cis*-carotenóide. O modelo cinético de degradação de primeira ordem foi seguido por todos os carotenóides estudados.

O uso de manitol e de sais divalentes e de fosfato como materiais de parede na microencapsulação do β -caroteno padrão por *freeze-drying* foi pesquisado por SUTTER *et al.* (2007). Em todos os tratamentos, as concentrações de β -caroteno da superfície das microcápsulas foram insignificantes. Durante a estocagem, a degradação do β -caroteno aumentou com a elevação da umidade relativa (UR), uma UR de 44% favoreceu significativamente a degradação do β -caroteno microencapsulado e em 75% de UR houve o rompimento das microcápsulas e a degradação quase total. Resultados semelhantes foram obtidos por SELIM *et al.* (2000) com crocetina de estigmas de açafraão encapsulada por *freeze-drying* com polivinilpirrolidona ou pullulan como material de parede e mantido no escuro, no qual a elevação da atividade de água (a_w) aumentou a taxa de degradação do carotenóide em uma cinética de primeira ordem.

A gelificação ionotrópica é outra técnica de encapsulação baseada na formação de uma emulsão sob agitação contínua, seguida por extrusão gota a gota, através de uma pipeta de calibre reduzido ou de uma seringa, caindo em uma solução iônica (SILVA *et al.*, 2003). O encapsulamento por gelificação ionotrópica do β -caroteno em suco de “sea buckthorn” (*Hippophaë rhamnoides* L.), tendo como material de parede a Furcellaran (polissacarídeo extraído de alga) foi estudado por LAOS *et al.* (2007). A eficiência da encapsulação do β -caroteno foi de 97%. A elevação da proporção do suco da fruta diminuiu a firmeza das cápsulas.

A microencapsulação por evaporação de solvente em emulsões múltiplas (óleo/água/óleo) consiste na formação primária de uma emulsão simples (óleo/água), seguida de uma emulsão múltipla, na presença do material de parede e do composto bioativo. O solvente é evaporado a 60°C sob vácuo por 7h em um rotaevaporador. Esta técnica de microencapsulação foi utilizada por HIGUERA-CIAPARA *et al.* (2004), com a quitosana como material de parede e a astaxantina padrão como material de recheio. Não foi observada a isomerização, nem a oxidação da astaxantina durante a microencapsulação e em 8 semanas de estocagem a 25, 35 e 45 °C.

A inclusão molecular é outra tecnologia de microencapsulação baseada no uso de ciclodextrinas (CD) como materiais de parede. Estudos comparativos entre as α -, β - e γ -CD na capacidade de formar complexos com licopeno extraído de goiaba (MATIOLI e RODRIGUEZ-AMAYA, 2003) e extraído de tomate (BLANCH *et al.*, 2007) demonstraram que o licopeno não complexou com a α -CD, mas microencapsulou com β - e γ -CD. A estabilidade na estocagem sob refrigeração (15°C) e na presença de luz foi significativamente maior para a γ -CD (MATIOLI e RODRIGUEZ-AMAYA, 2003).

A estabilidade térmica da astaxantina e o efeito da luz (1500lux) em inclusão molecular com β -CD foi estudado por CHEN *et al.* (2007). Nas temperaturas de estocagem de 4, 30 e 57°C, a luz não reduziu significativamente os teores de astaxantina microencapsulada.

A microencapsulação do licopeno extraído de tomate usando inclusão complexa com β -CD e comparada com a microencapsulação por *spray drying* seguido de liofilização foi estudado por NUNES e MERCADANTE (2007). A eficiência da microencapsulação por *spray drying* variou de 94 a 96%. A concentração do licopeno aumentou de 96,4 para 98% após o encapsulamento por *spray drying*, enquanto que diminuiu de 98 para 91% após a complexação e liofilização.

3. MICROENCAPSULAÇÃO POR *SPRAY DRYING* DE CAROTENÓIDES PADRÕES OU ISOLADOS

Na Tabela 1 são apresentadas pesquisas realizadas com carotenóides padrões ou isolados microencapsulados por *spray drying*. As perdas de β -caroteno padrão (11-18%) indicaram que em temperatura de entrada de 170-190°C e com os materiais de parede investigados, as perdas foram pequenas durante o processo de secagem.

A microencapsulação com amido modificado de tapioca apresentou a maior concentração de β -caroteno e o menor percentual na superfície externa das microcápsulas (19%) e a maltodextrina (MD) foi o material de parede que resultou em maior concentração do β -caroteno na superfície externa (73%) (LOKSUWAN, 2007). Durante a estocagem a 25°C por 17 semanas, DESOBRY *et al.* (1999) observaram que a MD Dextrose Equivalente (DE) 4 + glicose conferiu maior estabilidade e tempo de meia vida de 17 dias ao *trans*- β -caroteno. Os mais baixos teores de β -caroteno foram encontrados nas

Tabela 1. Parâmetros técnicos, cinéticos e resultados principais da microencapsulação por *spray drying* de carotenóides isolados.

Carotenóide	Material de parede	Temperatura (°C)			Ordem cinética de reação	Tempo de meia-vida	Resultados principais	Referências
		alimentação	entrada	saída				
<i>Trans</i> -β-caroteno	MD DE 25	43	170	95	Até 11° dia: Primeira Depois 11° dia: Segunda	7,1 semana ⁻¹ 27 semana ⁻¹	Perda de 11% do <i>trans</i> -β-caroteno durante a secagem e cerca de 38% ficou na superfície externa das microcápsulas	Desobry <i>et al.</i> , 1997
<i>Trans</i> -β-caroteno	MD DE 25 MD DE 15 + 9% glicose MD DE 15 + 9 galactose MD DE 15 + 24%lactose MD DE 4 + 18%glicose MD DE 4 + 18%galactose MD DE 4 + 40%lactose	NC	170	95	Primeira	0,10 semana ⁻¹ 0,13 semana ⁻¹ 0,11 semana ⁻¹ 0,12 semana ⁻¹ 0,05 semana ⁻¹ 0,06 semana ⁻¹ 0,05 semana ⁻¹	<i>Spray drying</i> promoveu perdas de 11 ± 1% do <i>trans</i> -β-caroteno em todos os materiais de parede. Após 17 semanas de estocagem a 25°C, a MD DE 4 + glicose proporcionou a melhor concentração e o maior tempo de meia vida.	Desobry <i>et al.</i> , 1999
β-Caroteno	Amido de tapioca/ Amido modificado de tapioca/ MD DE 24	NC	170	95	NC	NC	O amido modificado de tapioca promoveu a maior concentração do β-caroteno (82%) e o menor percentual na superfície externa das microcápsulas (19%). A MD foi o material de parede menos eficiente.	Loksuwan, 2007
Licopeno	Gelatina/Sacarose	55	190	52	NC	NC	Licopeno padrão com pureza acima de 82% apresentou maior eficiência da microencapsulação. Foi observada a formação de <i>cis</i> -licopeno durante o <i>spray drying</i> . A microencapsulação conferiu maior estabilidade ao licopeno durante a estocagem por 4 semanas..	Shu <i>et al.</i> , 2006
Licopeno	Goma arábica Goma arábica + MD DE 20	NC	120	85	Escuro Primeira Luz Primeira Escuro Primeira Luz Primeira	t<t ₂ 5,5 dias t>t ₂ 18,6 dias t<t ₂ 4,9 dias t>t ₂ 6,7 dias t<t ₂ 6,32 dias t>t ₂ 35,41 dias t<t ₂ 5,99 dias t>t ₂ 9,91 dias	A combinação de goma arábica e MD foi mais eficiente que somente goma arábica. O maior efeito da luz sobre o licopeno microencapsulado foi observado no segundo momento cinético.	Matioli e Rodriguez-Amaya, 2002

MD – maltodextrina; DE- dextrose equivalente; NC – não citado.

microcápsulas confeccionadas com MD. O amido modificado foi o material com maior capacidade de microencapsulação, com as menores concentrações do β -caroteno nas superfícies externas das microcápsulas.

Um modelo cinético de primeira ordem e em dois momentos sequenciais foram obtidos por DESOBRY *et al.* (1997, 1999). No primeiro momento ocorreu uma rápida queda na concentração do β -caroteno, seguida por degradações mais lentas, no segundo momento. Este comportamento cinético levou os autores a concluir que o primeiro momento cinético foi resultante da fotodegradação do carotenóide localizado nas superfícies externas das microcápsulas e no segundo momento, as taxas de degradação menores corresponderam às degradações do carotenóide interno nas microcápsulas e, portanto, mais protegidos da ação da luz e do oxigênio.

Para o licopeno isolado de goiaba e microencapsulado por *spray drying*, MATIOLI e RODRIGUEZ-AMAYA (2002) também observaram que a degradação se adequou a uma cinética de primeira ordem em dois momentos sequenciais. A ação da luz foi maior no segundo momento cinético e a combinação de goma arábica + MD foi mais eficiente que somente a goma arábica como material de parede. SHU *et al.* (2006) observaram que quanto maior a pureza do licopeno, maior a eficiência da microencapsulação, mesmo com a formação de *cis*-isômeros durante a secagem por *spray drying*. As microcápsulas conferiram maior estabilidade ao licopeno em 4 semanas de estocagem, comparado ao não encapsulado. Segundo os autores, as condições ótimas de microencapsulação foram: proporção material de parede/recheio, 4:1; relação gelatina:sacarose, 3:7; temperatura da emulsão na alimentação no *spray drying*, 55°C e temperatura de entrada, 190°C; pureza do licopeno de não menos de 82%.

4. MICROENCAPSULAÇÃO POR *SPRAY DRYING* DE EXTRATOS CAROTENOGÊNICOS

As condições técnicas da microencapsulação por *spray drying*, os parâmetros cinéticos e os resultados principais em relação à degradação de carotenóides em extratos de alimentos são apresentados na Tabela 2. A temperatura de alimentação variou de 25 a 38°C e na entrada do *spray dryer* variou de 120 a 200°C.

Para todos os extratos estudados e nos diversos materiais de parede, a microencapsulação elevou a proteção dos carotenóides, em relação aos alimentos não encapsulados ou obtidos por processo convencional e em sistemas modelos. Durante a estocagem na presença de luz, os carotenóides microencapsulados foram mais estáveis, quando comparados aos alimentos não microencapsulados.

A degradação de α -caroteno e β -caroteno de extrato de cenoura microencapsulada em amidos hidrolisados e estocadas por 8 semanas a 45°C e exposto a 2150lux ajustou-se a um modelo cinético de primeira ordem. Os tempos de meia-vida dos carotenos microencapsulados elevaram-se entre 70-120 vezes, dependendo do amido hidrolisado utilizado, quando comparados à cenoura seca por *spray drying* (não microencapsulada). Não foi observada a presença de *cis*-isômeros durante a estocagem, indicando a prevalência da oxidação sobre a isomerização destes carotenos. Pequenas variações no teor de umidade (2,7-3,4%) e na atividade de água (a_w 0,154-0,178) não interferiram na estabilidade dos carotenóides nas microcápsulas durante a estocagem (WAGNER e WARTHESEN, 1995).

A retenção dos carotenóides e a estabilidade nas microcápsulas estão diretamente relacionadas com a escolha do material de parede, a proporção material de parede/recheio,

Tabela 2. Parâmetros técnicos e resultados principais da microencapsulação por *spray drying* de extratos carotenogênicos.

Carotenóide/ alimento	Material de parede/ condições experimentais		Temperatura (°C)			Ordem cinética de reação	Tempo de meia- vida	Resultados principais	Referências	
			alimentação	entrada	saída					
α -caroteno/ Extrato de cenoura	Amido hidrolisado	DE 4	38	200	100	Primeira	149 dias	Após 8 semanas de estocagem, houve perdas de 90% dos carotenos microencapsulados em amido hidrolisado DE 4 e de 70% em DE 36 quando estocados a 21°C, perdas equivalentes a 2 dias de estocagem do suco de cenoura não encapsulado. A exposição à luz (2150lux) não acelerou a degradação dos carotenos microencapsulados.	Wagner e Warthesen, 1995	
		DE 15				Primeira	258 dias			
		DE 25				Primeira	210 dias			
β -caroteno/ Extrato de cenoura	Amido hidrolisado	DE 25	38	200	100	Primeira	458 dias	Após 8 semanas de estocagem, houve perdas de 90% dos carotenos microencapsulados em amido hidrolisado DE 4 e de 70% em DE 36 quando estocados a 21°C, perdas equivalentes a 2 dias de estocagem do suco de cenoura não encapsulado. A exposição à luz (2150lux) não acelerou a degradação dos carotenos microencapsulados.	Wagner e Warthesen, 1995	
		DE 4				Primeira	145 dias			
		DE 15				Primeira	237 dias			
β -caroteno, Capsantina, Capsorubina, Zeaxantina, Criptoxantina/ Oleoresina de páprica	Dextrina DE-15 (luz)	37°C	25	120- 180	30-60	Primeira	209 dias	A microencapsulação por <i>spray drying</i> promoveu maior estabilidade que o processo convencional e em sistemas modelos. A MD DE 15 foi o material de parede que melhor protegeu a oleoresina de páprica nas diferentes condições de luz, temperatura e atividade de água.	Beatus <i>et al.</i> , 1985	
		25°C				Primeira	431 dias			
		45°C				Primeira	9 dias			
Dextrina + Gelatina, Dext .+ Gelat. + G. arábica (luz)	35°C		25	120- 180	30-60	Segunda	11,3-20,3 dias	A microencapsulação por <i>spray drying</i> promoveu maior estabilidade que o processo convencional e em sistemas modelos. A MD DE 15 foi o material de parede que melhor protegeu a oleoresina de páprica nas diferentes condições de luz, temperatura e atividade de água.	Beatus <i>et al.</i> , 1985	
							Segunda			NC
							Segunda			NC
β -caroteno, Capsantina, Luteína, Zeaxantina, Criptoxantina, Violaxantina/ Oleoresina de pimenta e de cravo de defunto	Mistura de óleo de girassol, canola e cartamun, Gomas gelan e arábica, Maltodextrin a DE 10 a 35°C.	35% ST-3:9	NC	170	80	Zero	21,3 dias	A retenção dos carotenóides variou de 72-86%. A degradação dos carotenóides foi menor quando as microcápsulas foram confeccionadas de emulsões múltiplas e com maior teor de sólidos.	Rodríguez-Huezo <i>et al.</i> , 2004	
		25% ST-3:9				Zero	20,7 dias			
		35% ST-2:6				Zero	18,4 dias			
Bixina/ Extrato de urucum	Goma arábica + Sacarose/ MD DE-20 + Sacarose/ MD DE 20	Escuro	NC	185	65-75	1ª etapa	NC	A bixina foi mais estável no escuro que na presença da luz. Na luz, a concentração da bixina encapsulada com goma arábica foi 3 a 4 vezes maior do que com MD.	Barbosa <i>et al.</i> , 2005	
						2ª etapa	NC			
						Primeira	NC			
Bixina/ Extrato de urucum em preparo de refresco comercial de tangirina	Hidroxi- estearato de glicerina – polietileno glicol + MD	Escuro	NC	185	65-75	Primeira	693 dias	A bixina presente no extrato microencapsulado se mostrou mais estável à luz que a bixina presente no extrato não microencapsulado. O refresco comercial com bixina microencapsulada estocado na ausência da luz manteve a cor.	Prentice-Hernández e Rusig., 1999	
						Primeira	15 dias			

MD – maltodextrina; DE – dextrose equivalente; NC – não citado.

as condições ou parâmetros técnicos durante a secagem por *spray drying* e durante a estocagem (temperatura, umidade relativa, presença ou ausência de luz e oxigênio). Para encapsulação por *spray drying*, o amido modificado, a MD e as gomas têm sido os materiais de parede mais utilizados (GIBBS *et al.*, 1999).

A goma acácia ou arábica é um emulsificante hidrocolóide muito utilizado na indústria de alimentos. Trata-se de um polímero complexo formado por unidades de polissacarídeos como cadeia principal, com aproximadamente 2% de proteínas ligadas covalentemente aos polissacarídeos, sendo a fração protéica a responsável pela propriedade emulsificante da goma arábica (DICKINSON, 2003). Esta goma é usada nas microencapsulações de compostos lipofílicos, por apresentar excelente propriedade emulsificante (BERTOLINI *et al.*, 2001), formando emulsões estáveis (SHAIKH *et al.*, 2006), e habilidade de formar filmes (DICKINSON, 2003). Estas qualidades tecnológicas têm facilitado o uso da goma arábica como agente encapsulante pela melhor retenção e proteção exercida aos compostos bioativos dos alimentos (McNAMEE *et al.*, 2001).

A goma arábica protegeu a bixina microencapsulada da ação da luz em 3 a 4 vezes mais que MD. A presença de cerca de metade da bixina na superfície externa das microcápsulas confeccionadas com MD DE 20 indicou uma baixa eficácia da microencapsulação e esteve diretamente relacionada com a reduzida estabilidade deste carotenóide durante a estocagem a 21°C, na presença de luz (700 lux) e no escuro (BARBOSA *et al.*, 2005). A estocagem no escuro do refresco comercial com bixina microencapsulado em maltodextrina + hidroxistearato de glicerina e polietileno glicol preservou a cor do produto. Na presença de luz (900lux) a bixina se mostrou mais estável que a não microencapsulado, descrevendo uma cinética de degradação de

primeira ordem. No entanto, após a dissolução em água, a bixina hidromiscível exposta à luz (900lux) por 30 dias, alcançou perdas de até 82% (PRENTICE-HERNÁNDEZ e RUSIG, 1999).

Por ser um ingrediente muito caro e a sua capacidade emulsificante (teor de proteínas) variar com os lotes, a goma arábica está sendo substituída por outros materiais de parede como: gelatina + sacarose (SHU *et al.* 2006; XU *et al.*, 2007); isolado protéico de leite + destrina DE 18-20 (AHN *et al.*, 2008); amidos modificados (LOKSUWAN, 2007; XU *et al.*, 2007); amido derivado (DRUSCH e SCHWARZ, 2006; DRUSCH *et al.*, 2006) amidos hidrolisados (WAGNER e WARTHESEN, 1995); pectina (DRUSCH, 2007), e concentrado protéico de ervilha (PIERUCCI *et al.*, 2006; 2007).

A microencapsulação do β -caroteno (10 e 20%) em misturas de materiais de parede (amido modificado + sacarose e gelatina + sacarose) foi estudada por XU *et al.* (2007). Todas as microcápsulas produzidas apresentaram formato esférico, sendo que aquelas produzidas com gelatina (10 e 20% de β -caroteno) tinham superfícies lisas. Os pesquisadores concluíram que as microcápsulas com gelatina como material de parede eram mais íntegras e com menos porosidade na superfície externa do que aquelas confeccionadas com amido modificado.

As MDs são frequentemente usadas como agentes encapsulantes na proteção de ingredientes sensíveis a fatores ambientais, por formarem paredes de superfícies lisas em microcápsulas esféricas (DIB TAXI *et al.*, 2003) e apresentarem boa eficácia e baixo preço (DESOBRY *et al.*, 1999).

A adição de 10% de MD DE 15 em purê de batata doce de polpa amarela, submetida ao pré-tratamento enzimático ou não, e secos em *spray drying* (temperatura de entrada de 190°C), não promoveu suficiente proteção do β -caroteno à oxidação durante a estocagem a -20°C (GRABOWSKI *et al.*, 2008). A elevação no teor de MD para 40% e numa DE 25 e em condições

de processo menos severas formou microcápsulas de menores tamanhos (maior área superficial) e com maior quantidade de β -caroteno na superfície externa das micropartículas, o que favoreceu uma rápida degradação durante a estocagem (DESORBRY *et al.*, 1997).

A estabilidade dos carotenóides do extrato oleoresina de páprica microencapsulada foi estudada por BEATUS *et al.* (1985). As microcápsulas que foram confeccionadas com dextrina DE 15, estocadas por até 84 dias a 37°C e na presença de luz (2 tubos de néon a 18-20 cm de distância das amostras) resultaram numa constante cinética de degradação dos carotenóides de 3,1 (dias \times concentração)⁻¹ em um tempo de meia vida de 9 dias, numa cinética de segunda ordem. Com a adição de caseinato de sódio a dextrina como material de parede, a degradação destes pigmentos, na presença de luz, seguiu uma cinética de primeira ordem nas temperaturas de estocagem de 25 e 45°C. Nas demais misturas de materiais de parede, as microcápsulas expostas à luz ou mantidas no escuro em diferentes atividades de água (a_w) e estocadas a 35°C se adequaram a uma cinética de degradação de segunda ordem, numa relação inversa entre a intensidade da cor e a atividade de água.

A definição clara do modelo cinético não é uma tarefa fácil uma vez que os sistemas são muito complexos e nem sempre é possível isolar adequadamente mecanismos de reações químicas que levam às mudanças na qualidade ou ter modelos matemáticos robustos que possam descrever taxas de reações sob variadas condições de processo. Para se ter maior clareza na definição da ordem cinética de reação é necessário que se alcance mais de 50% de perda da quantidade inicial, pois graficamente os valores iniciais obtidos são bastante equivalentes, o que torna difícil distinguir entre os modelos de ordem zero e de primeira ordem (LABUZA, 1984). Não é tão simples correlacionar os modelos matemáticos com as perdas de nutrientes e mudanças de cor e de sabor (LABUZA, 1982)

Uma cinética de degradação de ordem zero para o total de carotenóides de oleoresinas de pimenta e de cravo de defunto microencapsulados foi obtida por RODRÍGUEZ-HUEZO *et al.* (2004) em todos os tratamentos no período experimental adotado (30 dias), correspondendo ao primeiro momento da cinética de degradação. A degradação dos carotenóides foi menor quando as microcápsulas foram confeccionadas com maior teor de sólidos.

A degradação de carotenóides microencapsulados em uma cinética de primeira ordem e em dois momentos sequenciais foi também observada por BARBOSA *et al.* (2005) em extrato de bixina. No primeiro momento ocorreu uma rápida queda na concentração dos carotenóides, seguida por degradações mais lentas, no segundo momento. Diante deste comportamento cinético os autores concluíram que a primeira queda foi resultante da fotodegradação dos carotenóides localizados nas superfícies externas das microcápsulas, onde estes estariam mais susceptíveis. No segundo momento, as taxas de degradações menores corresponderiam às degradações destes pigmentos localizados internamente nas microcápsulas, estando, portanto, mais protegidos da ação da luz e do oxigênio. No entanto, em 2008 BARBOSA e MERCADANTE observaram uma cinética de degradação de ordem zero com o extrato de bixina microencapsulado com goma arábica e MD, mantidos no escuro e na presença de luz (700lux).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A identificação das condições otimizadas na microencapsulação e a escolha de materiais de parede adequados ao alimento funcional são aspectos importantes a serem considerados. Nos estudos de estabilidade dos compostos bioativos microencapsulados, o tamanho das microcápsulas (partículas de diâmetros menores apresentam maiores áreas superficiais) e a quantidade dos compostos de interesse nas superfícies externas das microcápsulas são parâmetros

chaves na proteção destes compostos contra a ação de agentes ambientais responsáveis pela degradação.

Na microencapsulação com o uso de *spray drying*, as perdas observadas durante o processo de secagem foram compensadas pela maior estabilidade conferida aos carotenóides pelos materiais de parede, durante a estocagem. As misturas de diferentes materiais de parede grau alimentício é uma tendência na formulação das microcápsulas.

Nos estudos com carotenóides padrões ou isolados e com os extratos observa-se durante a estocagem, um comportamento cinético de degradação semelhante. Os resultados indicam que a extração dos carotenóides de suas matrizes alimentares eleva suas concentrações relativas, mas reduz o efeito protetor dos demais constituintes do alimento e da própria matriz (proteção proporcionada pela parede celular e membranas). Portanto, em nosso laboratório o uso do alimento carotenogênico na microencapsulação é preferido, visando o aproveitamento da proteção natural da matriz.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUDO, A.; ESTEVE, M. G.; PALLARÉS, C.; MARTÍNEZ-BALLARIN, I.; FABREGAT, X.; MALATS, N.; MACHENGES, I.; BADIA, A.; GONZÁLEZ, C. A. Vegetable and fruit intake and the risk of lung cancer in women in Barcelona, Spain. **European Journal of Cancer**, 33, 1256-1261, 1997.
- AHN, J-H.; KIM, Y-P.; LEE, Y-M.; SEO, E-M.; LEE, K-W.; KIM, H-S. Optimization of microencapsulation of seed oil by response surface methodology. **Food Chemistry**, 107, 98-105, 2008.

- ANAL, A. K.; SINGH, H. Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery. **Trends in Food Science & Technology**, 18, 240-251, 2007.
- BARBOSA, M. I. M. J.; BORSARELLI, C. D.; MERCADANTE, A. Z. Light stability of spray-dried bixin encapsulated with different edible polysaccharide preparations. **Food Research International**, 38, 989-994, 2005.
- BARBOSA, M. I. M. J.; MERCADANTE, A. Z. Avaliação da estabilidade das microcápsulas de bixina em diferentes matrizes alimentícias. **Tecnologia e Ciência Agropecuária**, 2, 23-26, 2008.
- BEATUS, Y.; ROSEMBERG, M. R.; KOPELMAN, I. J. Spray-drying microencapsulation of paprika oleoresin. **Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie**, 18, 28-34, 1985.
- BERTOLINI, A. C.; SIANI, A. C.; GROSSO, C. R. F. Stability of monoterpenes encapsulated in gum arabic by spray-drying. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, 49, 780-785, 2001.
- BLANCH, G. P.; DEL CASTILLO. M. L. R.; CAJA, M. DEL MAR; PÉREZ-MENDEZ, M.; SÁNCHEZ-CORTEZ, S. Stabilization of all-*trans*-lycopene from tomato by encapsulation using cyclodextrins. **Food Chemistry**, 105, 1335-1341, 2007.
- CHEN, X.; CHEN, R.; GUO, Z.; LI, C.; LI, P. The preparation and stability of the inclusion complex of astaxanthin with β -cyclodextrin. **Food Chemistry**, 101, 1580-1584, 2007.
- DAI, Q.; BORENSTEIN, A. R.; WU, Y.; JACKSON, J. C.; LARSON, E. B. Fruit and vegetable juices and alzheimer's disease: the kame project. **The American Journal of Medicine**, 119, 751-759, 2006.

- DESAI, K. G. H.; PARK, H. J. Recent developments in microencapsulation of food ingredients. **Drying Technology**, 23, 1361-1394, 2005.
- DESOBRY, S. A.; NETTO, F. M.; LABUZA, T. P. Comparison of spray-drying, drum-drying and freeze-drying for β -carotene encapsulation and preservation. **Journal of Food Science**, 62, 1158-1162, 1997.
- DESOBRY, S. A.; NETTO, F. M.; LABUZA, T. P. Influence of maltodextrin systems at an equivalent 25DE on encapsulated β -carotene loss during storage. **Journal of Food Processing Preservation**, 23, 39-55, 1999.
- DIB TAXI, C. M. A.; DE MENEZES, H. C.; SANTOS, A. B.; GROSSO, C. R. F. Study of the microencapsulation of camu-camu (*Myrciaria dubia*) juice. **Journal Microencapsulation**, 20, 443-448, 2003.
- DICKINSON, E. Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. **Food Hydrocolloids**, 17, 25-39, 2003.
- D'ODORICO, A.; MARTINES, D.; KIECHL, S.; EGGER, G.; OBERHOLLENZER, F.; BONVICINI, P.; STURNIOLO, G. C.; NACCARATO, R.; WILLEIT, J. High plasma levels of α - and β -carotene are associated with a lower risk of atherosclerosis, results from the Bruneck study. **Atherosclerosis**, 153, 231-239, 2000.
- DOSIL-DÍAZ, O.; RUANO-RAVINA, A.; GESTAL-OTERO, J. J.; BARROS-DOIS, J. M. Consumption of fruit and vegetables and risk of lung cancer: a case-control study in Galicia, Spain. **Applied Nutritional Investigation**, 24, 407-413, 2008.
- DRUSCH, S. Sugar beet pectin: a novel emulsifying wall component for microencapsulation of lipophilic food ingredients by spray-drying. **Food Hydrocolloids**, 21, 1223-1228, 2007.

- DRUSCH, S.; SCHWARZ, K. Microencapsulation proprieties of two different types of n-octenylsuccinate-derivatised starch. **European Food Research and Technology**, 222, 155-164, 2006.
- DRUSCH, S.; SERFERT, Y.; HEUVEL, A. V. D.; SCHWARZ, K. Physicochemical characterization and oxidative stability of fish oil encapsulated in an amorphous matrix containing trehalose. **Food Research International**, 39, 807-815, 2006.
- EL-AGAMEY, A.; LOWE, G. M.; MCGARVEY, D. J.; MORTENSEN, A.; PHILLIP, D. M.; TRUSCOTT, T. G.; YOUNG, A. J. Carotenoid radical chemistry and antioxidant/pro-oxidant proprieties. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, 430, 37-48, 2004.
- GHARSALLAOUI, A.; ROUDAUT, G.; CHAMBIN, O.; VOILLEY, A.; SAUREL, R. Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. **Food Research International**, 40, 1107-1121, 2007.
- GIBBS, B.; KERMASHA, S.; ALLI, I.; MULLIGAN, C. N. Encapsulation in the food industry: a review. **International Journal of Food Science and Nutrition**, 50, 213-224, 1999.
- GRABOWSKI, J. A.; TRUONG, V. D.; DAUBERT, C. R. Nutritional and rheological characterization of spray dried sweet potato powder. **Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie**, 41, 206-216, 2008.
- HIGUERA-CIAPARA, I.; FELIX-VALENZUELA, L.; GOYCOOLEA, F. M.; ARGUELLES-MONAL, W. Microencapsulation of astaxantina in chitosan matrix. **Carbohydrate Polymers**, 56, 41-45, 2004.
- HUNG, R. J.; ZHANG, Z-F.; RAO, J. Y.; PANTUCK, A.; REUTER, V. E. Protective effects of plasma carotenoids in the risk of bladder cancer. **The Journal of Urology**, 176, 1192-1197, 2006.

- KIM, M. K.; CHOI, K. Y.; LEE, W. C.; PARK, J. H. Y.; SUNG, M-K. KIM, J-S.; PARK, Y. G.; MENG, K-H.; KIM, J.; LEE-KIM, Y. C. Low serum β -carotene is associated with the incidence of colorectal adenoma. **Nutrition Research**, 27, 127-132, 2007.
- KISSEL, T.; MARETSCHKEK, S.; PACKHÄUSER, C.; SCHNIEDERS, JULIA; SEIDEL, N. Microencapsulation technique for parenteral depot systems and their application in the pharmaceutical industry. In: **Microencapsulation – Methods and industrial applications**. Second edition. Ed. Benita Stron, p.99-122, 2006.
- KRINSKY, N. I. Carotenoids as antioxidants. **Nutrition**, 17, 815-817, 2001.
- KRINSKY, N.; YEUM, K-J. Carotenoid-radical interactions. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, 305, 754-760, 2003.
- LABUZA, T. P. **Shelf-life dating of foods**. Westport: Food e Nutrition Press Inc., 1982. 500p.
- LABUZA, T. P. Application of Chemical Kinetics to Deterioration of foods. **Journal of Chemical Education**, 61, 348-358, 1984.
- LAOS, K.; LÖUGAS, T.; MÄNDMETS, A.; VOKK, R. Encapsulation of β -carotene from sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.) juice in furcellaran beads. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, 8, 395-398, 2007.
- LOKSUWAN, J. Characteristics of microencapsulated β -carotene formed by spray drying with modified tapioca starch, native tapioca starch and maltodextrin. **Food Hydrocolloids**, 21, 928-935, 2007.
- MAGGIO, D.; POLIDORI, M. C.; BARBANI, M.; TUFI, A.; RUGGIERO, C.; CECCHETTI, R.; AISA, M. C.; STAHL, W.; CHERUBINI, A. Low levels of carotenoids and retinol involutinal osteoporosis. **Bone**, 38, 244-248, 2006.

- MATIOLI, G.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Licopeno encapsulado em goma arábica e maltodextrina: estudo da estabilidade. **Brazilian Journal of Food Technology**, 5, 197-203, 2002.
- MATIOLI, G.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Microencapsulação do licopeno com ciclodextrinas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 23, 102-105, 2003.
- MATTHEW, J. A.; FELLOWS, I. W.; PRIOR, A.; KENNEDY, H. J.; BOBBIN, R.; JOHNSON, I. T. Habitual intake of fruits and vegetables amongst patients at increased risk of colorectal neoplasia. **Cancer Letters**, 114, 255-258, 1997.
- McNAMEE, B. F.; O'RIORDAN, E. D.; O'SULLIVAN, M. Effect of partial replacement of gum Arabic with carbohydrates on its microencapsulation properties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 49, 3385-3388, 2001.
- MIRMIRAN, P.; NOORI, N.; ZAVAREH, M. B.; AZIZI, F. Fruit and vegetable consumption and risk factors for cardiovascular disease. **Metabolism Clinical and Experimental**, 58, 460-468, 2009.
- NUNES, I. L.; MERCADANTE, A. Z. Encapsulation of lycopene using spray-drying and molecular inclusion processes. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, 50, 893-900, 2007.
- PIERUCCI, A. P. T. R.; ANDRADE, L. R.; BAPTISTA, E. B.; VOLPATO, N. M.; ROCHA-LEÃO, M. H. M. New microencapsulation system for ascorbic acid using pea protein concentrate as coat protector. **Journal of Microencapsulation**, 23, 654-662, 2006.
- PIERUCCI, A. P. T. R.; ANDRADE, L. R.; FARINE, M.; PEDROSA, C.; ROCHA-LEÃO, M. H. M. Comparison of α -tocopherol microparticles produced with different wall materials:

pea protein a new interesting alternative. **Journal of Microencapsulation**, 24, 201-213, 2007.

POLYAKOV, N. E.; LESHINA, T. V.; KONOVALOVA, T. A.; KISPERT, L. D. Carotenoids as scavengers of free radicals in a fenton reaction: antioxidants or pro-oxidants? **Free Radical Biology e Medicine**, 31, 398-404, 2001.

PRENTICE-HERNÁNDEZ, C.; RUSIG, O. Efeito da luz na estabilidade de um extrato microencapsulado obtido a partir do urucum (*Bixa orellana* L.). **Brazilian Journal of Food Technology**, 2, 185-189, 1999.

RIETJENS, I. M. C. M.; BOERSMA, M. G.; HAAN, L.; SPENKELINK, B.; AWAD, H. M.; CNUBBEN, N. H. P.; ZANDEN, J. J. V. Z.; WOUDE, H. V. D.; ALINK, G. M.; KOEMAN, G. M. The pro-oxidant chemistry of the natural antioxidants vitamin C, vitamin E, carotenoids and flavonoids. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, 11, 321-333, 2002.

RICHER, S.; STILES, W.; STATKUTE, L.; PULIDO, J.; FRANKOWSKI, J.; RUDY, D.; PEI, K.; TSIPURSKY, M.; NYLAND, J. Double-masked, placebo-controlled, randomized trial of lutein and antioxidant supplementation in the intervention of atrophic age-related macular degeneration: the veterans last study (lutein antioxidant supplementation trial). **Optometry**, 75, 216-230, 2004.

RODRÍGUEZ-HUEZO, M. E.; PEDROSA-ISLAS, L. A.; PRADO-BARRAGÁN, L. A.; BERISTAIN, C. I.; VERNON-CARTER, E. J. Microencapsulation by spray drying of multiple emulsions containing carotenoids. **Journal of Food Science**, 69, E351-359, 2004.

- SELIM, K.; TSIMIDOU, M.; BILIADERIS, C. G. Kinetic studies of degradation of saffron carotenoids encapsulated in amorphous polymer matrices. **Food Chemistry**, 71, 199-206, 2000.
- SEMBA, R. D.; LAURETANI, F.; FERRUCCI, L. Carotenoids as protection against sarcopenia in older adults. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, 458, 141-145, 2007.
- SHAIKH, J.; BHOSALE, R.; SINGHAL, R. Microencapsulation of black pepper oleoresin. **Food Chemistry**, 94, 105-110, 2006.
- SHU, B.; YU, W.; ZHAO, Y.; LIU, X. Study on microencapsulation of lycopene by spray-drying. **Journal of Food Engineering**, 76, 664-669, 2006.
- SILVA, C.; RIBEIRO, A.; FERREIRA, D.; VEIGA, F. Administração oral de peptídeos e proteínas: II. Aplicação de métodos de microencapsulação. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, 39, 1-20, 2003.
- SKULADOTTIR, H.; TJOENNELAND, A.; OVERVAD, K.; STRIPP, C.; OLSEN, J. H. Does high intake of fruit and vegetables improve lung cancer survival?. **Lung Cancer**, 51, 267-273, 2006.
- SUTTER, S. C.; BUERA, M. P.; ELIZALDE, B. E. β -Carotene encapsulation in a mannitol matrix as affected by divalent cations and phosphate anion. **International Journal of Pharmaceutics**, 332, 45-54, 2007.
- SUZUKI, K.; TAKASHI, I.; HIOKI, R.; OCHIAI, J.; KUSUHARA, Y.; ICHINO, N.; OSAKABE, K.; HAMAJIMA, N.; ITO, Y. Association of abdominal obesity with decreased serum levels of carotenoids in healthy Japanese population. **Clinical Nutrition**, 25, 780-789, 2006.

TANG, Y. C.; CHEN, B. H. Pigment change of freeze-dried carotenoid powder during storage.

Food Chemistry, 69, 11-17, 2000.

THOMSON, C. A.; FLATT, S. W.; ROCK, C. L.; RITENBAUGH, C.; NEWMAN, V.; PIERCE,

J. P. Increased fruit, vegetable and fiber intake and coger fat intake reported among women previously treated for invasive breast cancer. **Journal of the American Dietetic**

Association, 102, 801-808, 2002.

WAGNER, L. A.; WARTHESEN, J. J. Stability of spray-dried encapsulated carrot carotenes.

Journal of Food Science, 60, 1048-1053, 1995.

XU, X.; YAO, S.; HAN, N.; SHAO, B. Measurement and influence factors of the flowability of

microcapsules with high-content β -carotene. **Chinese Journal of Chemical Engineering**,

15, 579-585, 2007.

CAPÍTULO 2

Efeitos de processamento sob alta pressão hidrostática nos carotenóides de alimentos - uma revisão

JOSÉ EMILSON MACÊDO FERREIRA

DELIA B. RODRIGUEZ-AMAYA

Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Departamento de
Ciência de Alimentos, Campinas, SP, Brasil

RESUMO

O desenvolvimento de novas tecnologias de processamento e conservação de alimentos amplia a necessidade de se estudar os efeitos nos atributos nutricionais e funcionais dos alimentos. Observa-se um aumento crescente no interesse da pesquisa na retenção de compostos bioativos frente a estes novos métodos. Os carotenóides possuem cadeia poliênica responsáveis pela cor de vários alimentos de origem vegetal e animal. São termossensíveis e, portanto, podem ter maior retenção em processos não térmicos como o processamento sob alta pressão hidrostática (APH). Esta pesquisa bibliográfica teve por objetivo analisar as implicações do uso da APH na retenção de carotenóides nos alimentos. O perfil de carotenóides e seus teores nas matrizes são fatores intrínsecos relevantes na sua estabilidade e retenção durante processamento e estocagem. As pesquisas apresentam variações na retenção dos carotenóides em vegetais íntegros, sucos e polpas. A integridade da matriz, a temperatura inicial e a intensidade da APH e o tempo de pressurização são aspectos que devem ser avaliados em alimentos submetidos à APH.

Palavras chave: Tecnologias não térmicas; alta pressão hidrostática; carotenóides.

ABSTRACT

The development of new technologies for the processing and conservation of food amplifies the necessity to study the effects on the nutritional and functional attributes of foods. Increasing interest on research about the retention of bioactive compounds with these new methods can be observed. Carotenoids have a polyene chain responsible for the color of various foods of plant and animal origin. They are heat-sensitive and can therefore have better retention in non-thermal processes, such as high hydrostatic pressure (HHP) processing. This bibliographic research had the objective of analyzing the implications of the use of HHP on the retention of carotenoids in foods. The carotenoid pattern and their levels in the matrices are intrinsic factors relevant to their stability and retention during processing and storage. Research results show variation in the retention of carotenoid in whole foods, pulps and juices. The integrity of the matrix, the initial temperature and intensity of HHP and the duration of pressurization are aspects that should be evaluated in foods submitted to HHP.

Key words: Non-thermal technologies; high hydrostatic pressure; carotenoids.

1. INTRODUÇÃO

Os carotenóides são pigmentos naturais responsáveis pelas cores vermelha, laranja e amarela de muitos alimentos de origem vegetal e animal. A estes compostos também são atribuídas funções ou ações que promovem a saúde humana. Além da atividade pró-vitâmica A de alguns deles, estão associados à redução do risco de desenvolver alguns tipos de câncer, doenças cardiovasculares, catarata e degeneração macular. Porém são altamente insaturados, susceptíveis a isomerização e a oxidação.

Métodos tradicionais de processamento de alimentos baseados em tratamentos térmicos como a secagem, a concentração e a esterilização garantem a qualidade microbiológica dos produtos, mas podem comprometer os atributos sensoriais, a qualidade nutricional e funcional dos alimentos (KNORR *et al.* 2002).

Nas últimas décadas, a ênfase da tecnologia de alimentos tem sido a garantia da qualidade dos alimentos e a saúde do consumidor, disponibilizando alimentos seguros e nutritivos. As aplicações de processos não térmicos tais como ultrassom (US), campo elétrico pulsante (CEP), luz UV pulsante (LP), alta pressão hidrostática (APH) e microfiltração (MF) têm sido estudadas (BUTZ e TAUSCHER, 2002; SÁNCHEZ-MORENO *et al.*, 2006; TOEPFL *et al.*, 2007; GEVEKE *et al.*, 2007; GEVEKE e BRUNKHORST, 2008; KEYSER *et al.*, 2008; UNLUTURK *et al.*, 2008; ONGARATTO e VIOTTO, 2009; UEMURA *et al.*, 2010). Embora se encontrem no estágio de pesquisa e desenvolvimento, estas tecnologias têm grande potencial de serem implantadas nas indústrias nos próximos anos, já que representam um pequeno percentual na produção de alimentos (SUN, 2009).

O processamento com APH produz alimentos de alta qualidade, seguros e com vida de prateleira estendida. Há a expectativa de que esta tecnologia seja menos destrutiva que os

processos térmicos, com moléculas de baixo peso molecular como pigmentos e vitaminas (BUTZ *et al.*, 2002)

Esta pesquisa bibliográfica teve por objetivo rever os estudos sobre a retenção e estabilidade de carotenóides em sucos, polpas e vegetais íntegros, processados sob APH.

2. TÉCNICAS DE PROCESSAMENTO DE ALTA PRESSÃO

O processamento sob alta pressão é uma tecnologia não térmica capaz de inativar microrganismos (HENDRICKX *et al.*, 1998; PALOU *et al.*, 1999; HARTMANN e DELGADO, 2004; BAYINDIRLI *et al.*, 2006; BUZRUL *et al.*, 2008; LAVINAS *et al.*, 2008) e enzimas (CANO *et al.*, 1997; LÓPEZ-MALO *et al.*, 1998; POLYDERA *et al.*, 2004; RODRIGO *et al.*, 2006; MENEZES *et al.*, 2008; KATSAROS *et al.*, 2009a; 2009b) em sucos e polpas de frutas. Sua aplicação em escala industrial pode preservar o valor vitamínico de frutas e hortaliças e pode representar uma interessante alternativa aos processos térmicos convencionais (VAN DER PLANCKEN *et al.*, 2008). Atualmente, dois métodos de processamento de alimentos sob alta pressão têm sido investigados: o método homogeneizado (HAP – Homogeneizado à Alta Pressão), onde o alimento é submetido à alta pressão na linha de processamento e logo é despressurizado; e o método hidrostático (APH) (CAMPOS *et al.* 2003).

O HAP é um processo contínuo que utiliza um homogeneizador de alta pressão, onde o alimento é bombeado por dois intensificadores de pressão, sendo forçado a fluir através de uma válvula de homogeneização. Isto produz uma velocidade muito elevada na passagem pelo orifício, com posterior expansão, resultando na ruptura de células de microrganismos e causando mínimas alterações no alimento (CAMPOS *et al.* 2003).

Na APH, os alimentos sólidos, viscosos ou particulados, embalados ou não, são submetidos a pressões entre 100 e 1000MPa, em processos descontínuos (em batelada), semi-contínuos e contínuos. O processo em batelada é o mais simples e se faz em equipamentos industriais com capacidade de 10 a 500 litros. Esta pressurização pode ser direta ou indireta. No processo direto (*bulk processing*), o próprio alimento é o meio de pressurização. Na pressurização indireta (*in-containier*) o alimento é previamente embalado e existe um meio pressurizado (ex. água, água/etanol, água/óleo) que é responsável por transferir a pressão gerada na câmara de compressão para o alimento (PFLANZER *et al.*, 2008).

No processo semi-contínuo se utiliza vários recipientes de pressão em sequência, enquanto alguns estão em pressão constante, outros estão sendo pressurizados, carregados ou descarregados, reduzindo o tempo de processo (PFLANZER *et al.*, 2008).

O processo contínuo pode ser utilizado apenas para alimentos líquidos, pelo fato do equipamento ser composto por tubos ou recipientes de retenção que promovem um tempo de pressurização, e logo após, o alimento é acondicionado em tanques estéreis para posterior embalagem (MERTENS e DEPLACE, 1993).

A efetiva conservação dos alimentos tem sido reportada com aplicações de APH em combinações com diferentes pH (RASO e CANOVAS, 2003; ROSS *et al.*, 2003), campo elétrico pulsante (HUANG *et al.*, 2006; TOEPFL *et al.*, 2006), CO₂ (BERNHARDT *et al.*, 1988; SPILIMBERGO *et al.*, 2002), aditivos (SÁNCHEZ-MORENO *et al.*, 2004), e ultrassom (CORRALES *et al.*, 2008). No entanto, a eficácia da APH na preservação da qualidade e da segurança do alimento não é apenas influenciada por processos combinados ou por fatores extrínsecos, tais como o tempo de processo (de poucos segundos a mais de 50 minutos), o intervalo de pressurização/descompressão, relação pressão/temperatura (100 a 800MPa/0 a

100°C), mas por fatores intrínsecos aos alimentos como composição da matriz, atividade de água (a_w), pH e estado fisiológico dos microrganismos contaminantes (DEVLIEGHERE *et al.*, 2004; OEY *et al.*, 2008; WOLBANG *et al.*, 2008).

Durante a compressão, ocorre um incremento na temperatura inicial do alimento, chamado de aquecimento adiabático. Em alimentos aquosos, este acréscimo é de 3-4°C para cada 100MPa de pressão exercida, podendo variar com o pH da matriz e em função da elevação da pressão (BUTZ *et al.*, 2002; XI, 2006; RASTOGI *et al.*, 2007). A temperatura atingida durante a compressão é dependente da temperatura inicial do alimento, da taxa de compressão, do nível de pressão atingido e da composição do alimento (MATSER *et al.*, 2004; OEY *et al.*, 2008). Em alimentos que possuem uma significativa quantidade de gordura, como as manteigas e cremes de leite, o aquecimento adiabático pode chegar a 8-9°C/100MPa (RASANAYAGAM *et al.*, 2003). Em suco de laranja (cultivar Valencia) pressurizado a 500MPa, o aquecimento ocorrido na câmara de compressão resultou em alterações químicas no suco durante a estocagem a 4 e 8°C, que afetaram seus atributos sensoriais (PARISH, 1998). Em escala industrial, esta variação na temperatura após a compressão pode implicar na permanência do produto em elevada temperatura, que pode favorecer a oxidação (OTERO e SANZ, 2003).

O estabelecimento dos parâmetros tecnológicos do processo (pressão hidrostática, temperatura e tempo), o tipo de embalagem e as condições de armazenamento vão determinar o tempo de vida de prateleira (vida útil) do alimento pressurizado (VAN DER PLANCKEN *et al.*, 2008). Devido ao seu limitado efeito sobre as ligações covalentes, pouco se sabe até o momento sobre as possíveis reações químicas dos compostos de baixa massa molecular das matrizes alimentares submetidas a altas pressões, geralmente em meio aquoso (BUTZ e TAUSCHER, 2002; OEY *et al.*, 2008). Logo, investigações dos efeitos da APH na estabilidade e isomerização

dos carotenóides parecem ser necessárias, principalmente quando comparados com produtos obtidos por processos convencionais (SCHIEBER e CARLE, 2005).

3. RETENÇÃO DE CAROTENÓIDES EM FRUTAS SUBMETIDAS À ALTA PRESSÃO HIDROSTÁTICA.

Os parâmetros técnicos e os resultados principais na retenção de carotenóides em frutas processadas sob APH são apresentados Tabela 1. A pressurização variou de 50 a 800MPa numa amplitude térmica de 4 a 60°C e num intervalo de tempo de 1 a 60 minutos.

Em suco de laranja (cultivar Valencia late), DE ANCOS *et al.* (2002) observaram um aumento significativo nos teores dos carotenóides totais nas pressões de 100 e 300MPa, elevando em 23 e 43%, respectivamente. Resultado semelhante foi obtido por SÁNCHEZ-MORENO *et al.* (2003) em suco da mesma cultivar de laranja, onde a pressurização elevou a extractabilidade dos carotenóides com valores maiores a 400MPa/40°C/1minuto. Em suco misto de laranja, cenoura e limão submetido a pressurização a 500 e 800MPa, os teores de α -caroteno e β -caroteno não foram afetados (FERNÁNDEZ-GARCIA e BUTZ., 2001).

Em suco misto de maçã e brócolis pressurizado a 500MPa/5°C por 10 minutos, HOUSKA *et al.* (2006) verificaram que os baixos teores de carotenos não foram afetados, nem durante a estocagem do suco por até 34 dias.

Em pesquisa realizada com polpa de duas cultivares de caqui, a APH entre 50 e 400MPa por 15 minutos a 25°C elevou as concentrações dos carotenóides entre 9 e 27% (DE ANCOS *et al.* (2000). Esta elevação foi atribuída a maior extractabilidade exercida pela pressurização.

Tabela 1. Parâmetros técnicos e resultados principais em frutas processadas por APH.

Alimento	Carotenóide	Pressão (MPa)/ Temperatura(°C)	Tempo (min)	Resultados principais	Referência bibliográfica
Suco de laranja (cultivar Valencia late)	Carotenóides Totais α -caroteno β -caroteno Zeaxantina Luteína β -criptoxantina	50; 100; 200; 350/30 e 60	2,5 5,0 15,0	Nas pressões de 100 e 350 MPa, houve um aumento significativo nos teores dos carotenóides totais, chegando a 23 e 43%, respectivamente. A 50 e 200MPa não houve mudanças significativas no total de carotenóides e nem nos teores individuais.	De Ancos <i>et al.</i> , 2002
Suco de laranja (cultivar Valencia late)	β -criptoxantina Zeaxantina Luteína β -caroteno	100/60 350/30 400/40	5,0 2,5 1,0	Houve aumento no total de carotenóides a 400MPa/40°C/minuto	Sánchez-Moreno <i>et al.</i> , 2003
Suco de laranja limão e cenoura	α -caroteno β -caroteno	500; 800/4	5,0	A concentração dos carotenóides não foi afetada entre 500 e 800MPa.	Fernández García e Butz, 2001
Suco de maçã + brócolis	Carotenos Totais	500/5	10,0	Os teores de carotenos foram muito baixos e não foram observadas perdas durante a estocagem	Houska <i>et al.</i> , 2006
Polpa de caqui (cultivar Rojo Brilhante e Sharon)	Carotenóides Totais Violaxantina Neoxantina Zeaxantina Luteína Anteraxantina β -criptoxantina β -caroteno	50; 150; 300; 400/25	15,0	APH de 50 até 400MPa aumentou os teores dos carotenóides entre 9 e 27%, atribuindo-se a maior extractabilidade.	De Ancos <i>et al.</i> , 2000
Melão minimamente processado (cultivar Northern Sky, Southern Cross e Chantele)	β -caroteno	600/Temp. ambiente.	10,0	Para as três cultivares, houve aumento significativo do β -caroteno nas amostras submetidas a APH.	Wolbang <i>et al.</i> , 2008

Em melão cortado em pedaços, embalados e submetidos a 600MPa por 110 minutos na temperatura ambiente, WOLBANG *et al.* (2008) analisaram os teores de β -caroteno em três cultivares e verificaram que houve uma manutenção do caroteno nas amostras submetidas à APH, em comparação com aquelas não pressurizadas.

4. RETENÇÃO DE CAROTENÓIDES EM HORTALIÇAS SUBMETIDAS À ALTA PRESSÃO HIDROSTÁTICA.

Na Tabela 2 são apresentados os resultados principais de pesquisas de APH em hortaliças. Os parâmetros técnicos adotados variaram de 100 a 800MPa, numa temperatura inicial de 20 a 90°C e em intervalos de tempos de 1 a 60 minutos.

Em tomate *in natura*, a APH não alterou as concentrações do β -caroteno e do licopeno, nem promoveu a formação de *cis*-isômeros. Em vegetais íntegros (cenoura, brócolis e feijão verde), embalados a vácuo e submetidos a 400 e 600MPa por 2 minutos na temperatura ambiente, McINERNEY *et al.* (2007) não observaram nenhum efeito da APH sobre os carotenóides.

Os trabalhos realizados com polpa de tomate sob APH utilizaram temperatura ambiente (20 a 25°C), exceto para a pesquisa de KREBBERS *et al.* (2003), no qual a APH foi combinada com tratamento térmico. Nas temperaturas de 80 e 90°C a 700MPa, o total de licopeno não foi afetado. No entanto, a 500MPa/20°C os autores observaram um significativo acréscimo no teor de licopeno na polpa de tomate. Esta elevação no teor do licopeno também foi observada por SÁNCHEZ-MORENO *et al.* (2006), QIU *et al.* (2006) e por PATRAS *et al.* (2009) numa pressão de 600MPa. Nesta mesma pressão e com tempo de pressurização de 60 minutos, FERNÁNDEZ-GARCÍA *et al.* (2001) não perceberam mudanças nos níveis do licopeno e do β -caroteno em relação às amostras controle.

Tabela 2. Parâmetros técnicos e resultados principais da tecnologia de APH em hortaliças.

Alimento	Carotenóide	Pressão (MPa)/ Temperatura(°C)	Tempo (min)	Resultados principais	Referência bibliográfica
Tomate <i>in natura</i>	β -caroteno Licopeno	600/25	60,0	Não foram observadas mudanças nas concentrações, nem a formação de cis-isômeros	Butz <i>et al.</i> , 2002
Polpa de tomate	β -caroteno Licopeno	300; 600/20	10,0 60,0	A 600MPa/60min não houve mudanças nas concentrações dos dois carotenóides em relação ao controle, não sendo detectado epoxi-carotenóides	Fernández García <i>et al.</i> , 2001
Polpa de tomate	Lycopeno	300; 500; 700/20 700/80 e 90	2,0 1,0 a 30,0	Nas temperaturas de 80 e 90°C a APH de 700MPa não afetou o total de licopeno. A 500MPa/20°C observou-se um significativo acréscimo no teor de licopeno.	Krebbbers <i>et al.</i> , 2003
Polpa de tomate	Carotenoides totais Luteína, Licopeno, Epóxi-licopeno, γ -caroteno, β - caroteno	400/25	15,0	As amostras pressurizadas apresentaram os maiores teores de carotenóides em relação aos demais tratamentos, com elevação significativa e seletiva da luteína (71%); epoxi-licopeno (78%); licopeno (49%); γ -caroteno (82%); e o β -caroteno (36%).	Sánchez-Moreno <i>et al.</i> , 2006
Polpa de tomate	Lycopeno	100; 200; 300; 400; 500; 600/20	12,0	Pequeno acréscimo na concentração do licopeno com a elevação da pressão até 600MPa, em relação às amostras não pressurizadas.	Qiu <i>et al.</i> , 2006
Polpa de tomate	Carotenóides totais	400; 500; 600/20	15,0	A 400MPa houve um pequeno e significativo decréscimo nos carotenóides totais. A 600MPa houve um incremento significativo na concentração dos carotenóides totais em relação a amostra controle.	Patras <i>et al.</i> , 2009
Suco de tomate	Carotenóides totais Licopeno	100; 200; 300; 400; 500/50	4,0 25,0 50,0	APH acima de 300MPa (4 e 25°C) elevou os carotenóides totais (62%) e o licopeno (56%), com redução a 50°C.	Hsu, 2008
Suco de tomate	Carotenóides totais Licopeno	300; 400; 500/25	10,0	APH elevou os carotenóides totais (62%) e do licopeno (60%).	Hsu <i>et al.</i> , 2008

Tabela 2. Parâmetros técnicos e resultados principais da tecnologia de APH em hortaliças (continuação).

Alimento	Carotenóide	Pressão (MPa)/ Temperatura(° C)	Temp o (min)	Resultados principais	Referência bibliográfica
Tomate (rejeitos industriais)	Licopeno	100; 200; 300; 400; 500; 600/ Temperatura ambiente	1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0; 10,0	O teor de licopeno aumentou significativamente até 500MPa não havendo acréscimo significativo entre 500-600MPa, nem com a elevação do tempo de 1 a 10min.	Xi, 2006
Polpa de cenoura	Carotenóides totais	400; 500; 600/20	15,0	Todas as amostras processadas apresentaram teores maiores de carotenóides totais que aquelas não pressurizadas. A 600MPa este acréscimo chegou a 58%.	Patras <i>et al.</i> , 2009
Polpa de cenoura	β -caroteno	300; 450; 600/75	40,0	Em todas as APH não houve uma redução significativas do β -caroteno em relação a sua concentração inicial	Butz e Tauscher, 2002
Cenoura	α -caroteno β -caroteno	400; 600/ Temperatura ambiente	2,0	Para os três vegetais estudados, não houve efeito da APH sobre os carotenóides estudados.	McInerney et al., 2007
Brócolis	β -caroteno Luteína				
Feijão verde	Luteína				
Gazpacho (Sopa de vegetais)	Carotenóides Totais γ -caroteno β -caroteno Licopeno Luteína	150; 300/60	15,0	A 300MPa, o β -caroteno e a luteína elevaram seus teores, mas não houve mudança para o licopeno e o γ -caroteno.	Plaza <i>et al.</i> , 2006

A APH elevou os teores de carotenóides totais e do licopeno em suco de tomate (HSU, 2008; HSU *et al.*, 2008). Acima de 300MPa e a 4 e 25°C, HSU (2008) observou uma elevação de 62% na concentração dos carotenóides totais e de 56% no licopeno. No entanto, ao elevar a temperatura da amostra para 50°C, houve uma redução na concentração dos carotenóides totais e do licopeno, comparado aos demais tratamentos de APH.

Em rejeitos industriais de tomate (peles e sementes), a elevação da APH até 500MPa elevou significativamente a concentração do licopeno, não havendo acréscimo significativo entre 500 e 600MPa, nem com a elevação do tempo de 1 para 10 minutos (XI, 2006).

Em polpa de cenoura em temperatura ambiente, PATRAS *et al.* (2009) observaram que a APH elevou o teor de carotenóides totais, chegando a um acréscimo de 58% a 600MPa. A elevação da temperatura da polpa de cenoura para 75°C e em todas as condições de APH, BUTZ e TAUSCHER (2002) verificaram que não houve redução significativa do β -caroteno em relação a sua concentração inicial.

Em vegetais íntegros (cenoura, brócolis e feijão), embalados a vácuo e submetidos a 400 e 600MPa por 2 minutos, na temperatura ambiente, McINERNEY *et al.* (2007) não observaram nenhum efeito da APH sobre o α -caroteno e o β -caroteno da cenoura, o β -caroteno e a luteína do brócolis e a luteína de feijão verde.

Em gazpacho (sopa Mediterrânea), houve uma tendência de aumento, não estatisticamente significativo, do total de carotenóides a 300MPa. O β -caroteno e a luteína elevaram suas concentrações no gazpacho sob APH, fato este não observado para o γ -caroteno e o licopeno, em relação ao gazpacho não pressurizado (PLAZA *et al.*, 2006).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Poucas são as pesquisas voltadas ao estudo do impacto da APH nas propriedades funcionais dos alimentos, mais precisamente na estabilidade dos carotenóides. Em geral, o processamento por APH não diminuiu os teores dos carotenóides em frutas e hortaliças. Houve vários relatos de elevação dos níveis de carotenóides, atribuída a maior extractabilidade dos carotenóides em alimentos processados sob APH. A integridade da matriz, a intensidade e o tempo de pressurização e a temperatura são aspectos que devem ser observados nas pesquisas com alimentos carotenogênicos submetidos à APH. O perfil de carotenóides e os teores destes nas matrizes são fatores intrínsecos relevantes nos estudos de retenção e estabilidade na estocagem dos alimentos submetidos ao processamento por APH.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAYINDIRLI, A.; ALPAS, H.; BOZOĞLU, F.; HIZAL, M. Efficiency of high pressure treatment on inactivation of pathogenic microorganisms and enzymes in apple, orange, apricot and sour cherry juices. **Food Control**, 17, 52-58, 2006.
- BERNHARDT, G.; DISTÈCHE, A.; JAENICKE, R.; KOCH, B.; LUDEMANN, H-D.; STETTER, K-O. Effect of carbon dioxide and hydrostatic pressure on the pH of culture media and the growth of methanogens at elevated temperature. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 28, 176-181, 1988.
- BUTZ, P.; TAUSCHER, B. Emerging technologies: chemical aspects. **Food Research International**, 35, 279-284, 2002.

- BUTZ, P.; EDENHARDER, R.; FERNÁNDEZ GARCÍA, A.; FISTER, H.; MERKEL, C.; TAUSCHER, B. Changes in functional properties of vegetables induced by high pressure treatment. **Food Research International**, 35, 295-300, 2002.
- BUZRUL, S.; ALPAS, H.; LARGETEAU, A.; DEMAZEAU, G. Inactivation of *Escherichia coli* and *Listeria innocua* in kiwifruit and pineapple juices by high hydrostatic pressure. **International Journal of Food Microbiology**, 124, 275-278, 2008.
- CAMPOS, F. P.; DOSULADO, G. L.; CRISTIANINI, M. Utilização da tecnologia de alta pressão no processamento de alimentos. **Brazilian Journal of Food Technology**, 6, 351-357, 2003.
- CANO, M. P.; HERNANDEZ, A.; DE ANCOS, B. High pressure and temperature effects on enzyme inactivation in strawberry and orange products. **Journal of Food Science**, 62, 85-88, 1997.
- CORRALES, M.; TOEPFL, S.; BUTZ, P.; TAUSCHER, B. Extraction of anthocyanins from grape by-products assisted by ultrasonics, high hydrostatic pressure or pulsed electric fields: A comparison. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, 9, 85-91, 2008.
- DE ANCOS, B.; GONZALEZ, E.; CANO, M. P. Effect of high-pressure treatment on the carotenoid composition and the radical scavenging activity of persimmon fruit purées. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 48, 3542-3548, 2000.
- DE ANCOS, B.; SGROPPO, S.; PLAZA, L.; CANO, M. P. Possible nutritional and health-related value promotion in orange juice preserved by high-pressure treatment. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 82, 790-796, 2002.

- DEVLIEGHERE, F.; VERMEIREN, L.; DEBEVERE, J. New preservation technologies: Possibilities and limitations. **International Dairy Journal**, 14, 273-285, 2004.
- FERNÁNDEZ GARCÍA, A.; BUTZ, P.; TAUCHER, B. Effects of high-pressure processing on carotenoid extractability, antioxidant activity, glucose diffusion, and water binding of tomato purée (*Lycopersicon esculentum* Mill.). **Sensory and Nutritive Qualities of Food**, 66, 1033-1038, 2001.
- FERNÁNDEZ GARCÍA, A.; BUTZ, P.; BOGNÀR A.; TAUCHER, B. Antioxidative capacity, nutrient content and sensory quality of orange juice and an orange-lemon-carrot juice product after high pressure treatment and storage in different packing. **European Food Research and Technology**, 213, 290-296, 2001.
- GEVEKE, D. J.; BRUNKHORST, C. Radio frequency electric fields inactivation of *Escherichia coli* in apple cider. **Journal of Food Engineering**, 85, 215-221, 2008
- GEVEKE, D. J.; BRUNKHORST, C.; FAN, X. Radio frequency electric field processing of orange juice. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, 8, 549-554. 2007.
- HARTMANN, C.; DELGADO, A. Stress and strain in a yeast cell under high hydrostatic pressure. **Proceedings in Applied Mathematics and Mechanics**, 4, 316-317. 2004.
- HENDRICKX, M.; LUDI KHUYZE, L.; WEEMAES, C. Effects of high pressure on enzymes related to food quality. **Trends in Food Science & Technology**, 9, 197-203, 1998.
- HOUSKA, M.; STROHALM, J.; KOCUROVÁ, K.; TOTUSEK, J.; LEFNEROVÁ, D.; TRISKA, J.; VRCHOTOVÁ, N.; FIEDLEROVÁ, V.; HOLASOVA, M.; GABROVSKA, D.; PAULÍCKOVÁ, I. High pressure and foods – fruit/vegetable juices. **Journal of Food Engineering**, 77, 386-398, 2006.

- HSU, K-C. Evaluation of processing qualities of tomato juice induced by thermal and pressure processing. **Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie**, 41, 450-459, 2008.
- HSU, K-C.; TAN, F-J; CHI, H-Y. Evaluation of microbial inactivation and physicochemical proprieties of pressurized tomato juice during refrigerated storage. **Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie**, 41, 367-375, 2008.
- HUANG, E.; MITTAL, G. S.; GRIFFITHS, M. W. Inactivation of *Salmonella enteritidis* in liquid whole egg using combination treatments of pulsed electric field, high pressure and ultrasound. **Biosystems Engineering**, 94, 403-413. 2006.
- KATSAROS, G. I.; KATAPODIS, P.; TAOUKIS, P. S. Modeling the effect of temperature and high hydrostatic pressure on the proteolytic of kiwi fruit juice. **Journal of Food Engineering**, 94, 40-45, 2009a.
- KATSAROS, G. I.; KATAPODIS, P.; TAOUKIS, P. S. High hydrostatic pressure inactivation kinetics of the plant proteases ficin and papain. **Journal of Food Engineering**, 91, 42-48, 2009b.
- KEYSER, M.; MULLER, I. A.; CILIERIS, F. P.; NEL, W.; GOUWS, P. A. Ultraviolet radiation as a non-thermal treatment for the inactivation of microorganisms in fruit juice. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, 9, 348-354, 2008.
- KNORR, D.; ADE-OMOWAYE, B. I. O.; HEINZ, V. Nutritional improvement of plants foods by non-thermal processing. **Proceedings of the Nutrition Society**, 61, 311-318, 2002.
- KREBBERS, B.; MATSER, A. M.; HOOGERWERF, S. W.; MOEZELAAR, R.; TOMASSEN, M. M. M.; VAN DER BERG, R. W. Combined high-pressure and thermal treatments for processing of tomato purée: evaluation of microbial inactivation and quality parameters. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, 4, 377-385, 2003.

- LAVINAS, F. C.; MIGUEL, M. A. L.; LOPES, M. L. M.; MESQUITA, V. L. V. Effect of high hydrostatic pressure on cashew apple (*Anacardium occidentale* L.) juice preservation. **Journal of Food Science**, 73, 273-277, 2008.
- LÓPEZ-MALO, A.; PALOU, E.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V.; WELTI-CHANES, J.; SWANSON, B. G. Polyphenoloxidase activity and color changes during storage of high hydrostatic pressure treated avocado puree. **Food Research International**, 31, 549-556, 1998.
- MATSER, A. M.; KREBBERS, B.; VAN DEN BERG, R. W.; BARTELS, P. V. Advantages of high pressure sterilization on quality of food products. **Trends in Food Science & Technology**, 15, 79-85, 2004.
- McINERNEY, J. K.; SECCAFIEN, C. A.; STEWART, C. M.; BIRD, A. R. Effects of high pressure processing on antioxidant activity, and total carotenoid content and availability, in vegetables. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, 8, 543-548, 2007.
- MENEZES, E. M. S.; ROSENTHAL, A.; SABAA-SRUR, A.; CAMARGO, L.; CALADO, V.; SANTOS, A. Efeito as alta pressão hidrostática na atividade de enzimas da polpa de açai. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 28, 14-19, 2008.
- MERTENS, B.; DEPLACE, G. Engineering aspects of high pressure technology in the food industry. **Food Technology**, 47, 164-169, 1993.
- OEY, I.; VAN DER PLANCKEN, I.; VAN LOEY, A.; HENDRICKX, M. Does high pressure influence nutrition aspects of plant based food systems? **Trends in Food Science & Technology**, 19, 300-308, 2008.

- ONGARATTO, R. S.; VIOTTO, L. A. Clarificação do suco de pitanga (*Eugenia uniflora* L.) e concentração de carotenóides por microfiltração e ultrafiltração. **Brazilian Journal of Food Technology**, VII BMCFB, 85-93, 2009.
- OTERO, L.; SANZ, P. D. Modeling heat transfer in high pressure food processing: a review. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, 4, 121-134, 2003.
- PALOU, E.; LÓPEZ-MALO, A.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V.; WELTI-CHANES, J.; SWANSON, B. G. Polyphenoloxidase activity and color of blanched and high hydrostatic pressure treated banana puree. **Journal of Food Science**, 64, 42-45, 1999.
- PARISH, M. E. Orange juice quality after treatment by thermal pasteurization or isostatic high pressure. **Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie**, 31, 439-442, 1998.
- PATRAS, A.; BRUNTON, N.; PIEVE, S. D.; BUTLER, F.; DOWNEY, G. Effect of thermal and high pressure processing on antioxidant activity and instrumental colour of tomato and carrot purées. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, 10, 16-22, 2009.
- PFLANZER, S. B.; CRUZ, A. G.; HATANAKA, C. L.; GIGANTE, M.L. Efeito do processamento por alta pressão hidrostática nas características físico-químicas, microbiológicas e nutricionais do leite. **Brazilian Journal of Food Technology**, 11, 241-251, 2008.
- PLAZA, L.; SÁNCHEZ-MORENO, C.; DE ANCOS, B.; CANO, M. P. Carotenoid content and antioxidant capacity of Mediterranean vegetable soup (*gazpacho*) treated by high-pressure/temperature during refrigerated storage. **European Food Research and Technology**, 223, 210-215, 2006.
- POLYDERA, A. C.; GALANOU, E.; STOFOROS, N. G.; TAOUKIS, P. S. Inactivation kinetics of pectin methylesterase of greek Navel orange juice as a function of high

- hydrostatic pressure and temperature process conditions. **Journal of Food Engineering**, 62, 291-298, 2004.
- QIU, W.; JIANG, H.; WANG, H.; YULONG, G. Effect of high hydrostatic pressure on lycopene stability. **Food Chemistry**, 97, 516-523, 2006.
- RASANAYAGAM, V.; BALASUBRAMANIAM, V. M.; TING, E.; SIZER, C. E.; BUSH, C.; ANDERSON, C. Compression heating of selected fatty food materials during high-pressure processing. **Journal of Food Science**, 68, 254-259, 2003.
- RASO, J.;CANOVAS, G. V. B. Nonthermal preservation of foods using combined processing techniques. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 43, 265-285, 2003.
- RASTOGI, N. K.; RAGHAVARAO, M. S.; BALASUBRAMANIAM, V. M.; NIRANJAN, K.; KNORR, D. Opportunities and challenges in high pressure processing of foods. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 47, 69-112, 2007.
- RODRIGO, D.; CORTÉS, C.; CLYNEN, E.; SCHOOF, L.; LOEY, A. V.; HENDRICKX, M. Thermal and high-pressure stability of purified polygalacturonase and pectinmethylesterase from four different tomato processing varieties. **Food Research International**, 39, 440-448, 2006.
- ROSS, A. I. V.; GRIFFITHS, M. W.; MITTAL, G. S.; DEETH, H. C. Combining nonthermal technologies to control foodborne microorganisms. **International Journal of Food Microbiology**, 89, 125-138, 2003.
- SÁNCHEZ-MORENO, C.; PLAZA, L.; DE ANCOS, B.; CANO, M. P. Vitamin C, provitamin A carotenoids, and other carotenoids in high-pressurized Orange juice during refrigerated storage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 51, 647-653, 2003.

- SÁNCHEZ-MORENO, C.; PLAZA, L.; DE ANCOS, B.; CANO, M. P. Effect of combined treatments of high-pressure and natural additives on carotenoid extractability and antioxidant activity of tomato puree (*Lycopersicum esculentum* Mill.). **European Food Research and Technology**, 219, 151-160, 2004.
- SÁNCHEZ-MORENO, C.; PLAZA, L.; DE ANCOS, B.; CANO, M. P. Impact of high-pressure and traditional thermal processing of tomato purée on carotenoids, vitamin C and antioxidant activity. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 86, 171-179, 2006.
- SCHIEBER, A.; CARLE, R. Occurrence of carotenoid *cis*-isomers in food: Tecnological, analytical, and nutritional implications. **Trends in Food Science & Technology**, 16, 416-422, 2005.
- SPIILIMBERGO, S.; ELVASSORE, N.; BERTUCCO, A. Microbial inactivation by high-pressure. **Journal of Supercritical Fluids**, 22, 55-63, 2002.
- SUN, DA-WEN Emerging Technologies for Food Processing. **Trends in Food Science & Technology**, 20, 105-106, 2009.
- TOEPFL, S.; HEINZ, V.; KNORR, D. High intensity pulsed electric fields applied for food preservation. **Chemical Engineering and Processing**, 46, 537-546, 2007.
- TOEPFL, S.; MATHYS, A.; HEINZ, V.; KNORR, D. Review: potencial of high hydrostatic pressure and pulsed electric fields for energy efficient and environmentally friendly food processing. **Food Reviews Internacional**, 22, 405-423, 2006.
- UEMURA, K.; TAKAHASHI, C.; KOBAYASHI, I. Inactivation of *Bacillus subtilis* spore in soybean milk by radio-frequency flash heating. **Journal of Food Engineering**, 100, 622-626, 2010.

UNLUTURK, S.; ATILGAN, M. R.; BAYSAL, A. H.; TARI, C. Use of UVC radiation as a non-thermal process for liquid egg products (LEP). **Journal of Food Engineering**, 85, 561-568, 2008.

VAN DER PLANCKEN, I.; GRAUWET, T.; OEY, I.; VAN LOEY, A.; HENDRICKX, M. Impact evaluation of high pressure on foods: considerations on the development of pressure-temperature-time integrators (pTTIs). **Trends in Food Science & Technology**, 19, 337-348, 2008.

WOLBANG, C. M.; FITOS, J. L.; TREEBY, M. T. The effect of high pressure processing on nutritional value and quality attributes of *Cucumis melo* L. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, 9, 196-200, 2008.

XI, J. Effect of high pressure processing on the extraction of lycopene in tomato paste waste. **Chemical Engineering & Technology**, 29, 736-739, 2006.

CAPÍTULO 3

Comportamento de compostos bioativos em microfiltrações de alimentos – uma revisão

JOSÉ EMILSON MACÊDO FERREIRA
DELIA B. RODRIGUEZ-AMAYA

Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Departamento de
Ciência de Alimentos, Campinas, SP, Brasil.

RESUMO

A microfiltração (MF) é uma tecnologia de separação por membranas com diâmetros entre 0,1 a 10,0 μm , sendo considerada uma esterilização a frio. Trata-se de uma tecnologia em expansão na indústria de sucos, com o lançamento no mercado de uma variedade de novos produtos, baseados em sucos de frutas clarificados. Uma séria limitação é a formação de uma camada de entupimento dos poros das membranas (“*fouling*”), necessitando prévio tratamento enzimático das polpas e sucos de frutas. O desafio do uso da MF é preservar os compostos funcionais ao mesmo tempo em que se obtenha sucos de frutas isentos de microrganismos e enzimas. Alimentos carotenogênicos microfiltrados tiveram seus pigmentos retidos pelas fibras e membranas filtrantes e, portanto, a MF serve para concentrá-los no retentado. Os flavonóides apresentaram comportamento variável, dependendo das condições operacionais de MF. As perdas da vitamina C no suco clarificado e no retentado estavam relacionadas ao tratamento enzimático e com o bombeamento (incorporação do oxigênio) durante a MF.

Palavras chave: Processos não térmicos; microfiltração; carotenóides; flavonóides; vitamina C.

ABSTRACT

Microfiltration (MF) is a separation technology by membranes having diameters between 0.1 to 10.0 μm , which is considered a non-thermal sterilization. It is an expanding technology in the juice industry, with a variety of products, based on clarified fruit juices, being launched in the market. A serious limitation is the formation of a layer that clogs the pores of the membranes (fouling), requiring previous enzymatic treatment of fruit pulps and juices. A challenge for the use of MF is to preserve the functional compounds while obtaining fruit juices free from microorganisms and enzymes. Microfiltered carotenogenic foods had these pigments retained by the filtering fibers and membranes, thus microfiltration can serve to concentrate them in the retentate. The flavonoids had variable behavior, depending on the operating conditions of MF. Losses of vitamin C in the clarified juice and in the retentate were related to the enzymatic treatment and pumping (incorporating oxygen) during MF.

Key words: Non-thermal technologies, microfiltration, carotenoids, flavonoids, vitamin C.

1. INTRODUÇÃO

Os processos de separação utilizando membranas como a microfiltração (MF), a ultrafiltração (UF) e a osmose inversa (OI) surgem como uma alternativa aos processos tradicionais de processamento dos alimentos por não envolverem mudanças de fases, nem a necessidade de utilizar temperaturas elevadas, com menor consumo de energia e manutenção das características sensoriais dos produtos (SÁ *et al.*, 2003; CASSANO *et al.*, 2003; CARVALHO *et al.*, 2008). Estas tecnologias adquiriram grande potencial de utilização pelas indústrias de alimentos e bebidas após a descoberta de membranas assimétricas por Loeb and Souriragin na década de 60 do século 20 (JIAO *et al.*, 2004).

Recentemente, uma variedade de novos produtos, baseados em sucos de frutas clarificados, está sendo lançada no mercado. Para estes alimentos, transparência e homogeneidade são atributos essenciais que podem ser alcançados apenas com a remoção dos sólidos em suspensão. Alguns destes produtos são bebidas, como licor de acerola (NOGUEIRA e VENTURINI FILHO, 2005), águas aromatizadas ou mineralizadas, chás frios com suco clarificado, guloseimas (caldas para sorvetes), essências naturais, molhos de frutas translúcidos, misturas homogeneizadas de polpas de frutas, geléias de frutas e gelatinas (VAILLANT *et al.*, 2001).

A MF é um processo de separação de compostos com diâmetro entre 0,1 a 10,0 μm oriundos de suspensões, com a passagem de líquidos através de membranas filtrantes (CHO *et al.*, 2003). Esta tecnologia serve para concentrar ou fracionar o líquido, obtendo-se duas frações de composição distinta: a que atravessa a membrana é chamada de *filtrado* ou *permeado* e a que permanece retida pela membrana é chamada de *concentrado* ou *retentado* (LIRA *et al.*, 2009). Neste processo, o fluxo da polpa de fruta submetida à pré-tratamento enzimático é tangencial a

área de filtração, o que limita o acúmulo de material fibroso próximo da membrana, permitindo um processo contínuo (DORNIER *et al.*, 1995).

Após o fracionamento, o suco clarificado se apresenta despectinado e com maior estabilidade que o suco integral (GALAVERNA *et al.*, 2008). A principal vantagem da clarificação utilizando membranas de MF é a operacionalização em temperatura ambiente, evitando-se os efeitos deletérios do tratamento térmico como a caramelização dos açúcares e o escurecimento não enzimático (CARVALHO *et al.*, 2008), ao mesmo tempo em que se obtém uma fração clarificada isenta de microrganismos contaminantes (VAILLANT *et al.*, 1999).

2. LIMITAÇÕES DA MICROFILTRAÇÃO

O principal fator limitante na microfiltração é o rápido declínio no fluxo do permeado ao longo do processo devido ao fenômeno *fouling* (YOUN *et al.*, 2004; SALAZAR *et al.*, 2007). O *fouling* é o resultado do aumento da concentração de solutos na superfície interna das membranas, do entupimento de poros e também da adsorção de moléculas no material poroso da membrana, contribuindo para aumentar a resistência da membrana à transferência de massa (MAGALHÃES *et al.*, 2005; USHIKUBO *et al.*, 2007), promovendo um declínio no fluxo do permeado no decorrer do tempo de processo (MONDOR *et al.*, 2000). Segundo CONSTENLA e LOZANO (1997) este decréscimo poderia ser dividido em três períodos, O primeiro período é caracterizado por uma rápida redução no fluxo do permeado, em poucos minutos. Durante o segundo período (até um fator de concentração volumétrico igual a 3), ocorrem pequenas variações no fluxo do permeado, dependendo dos limites de separação (“cut-off”) das membranas filtrantes. No terceiro período, observa-se uma tendência de decréscimo linear do fluxo com a elevação do fator de concentração.

Em polpa de maracujá, por exemplo, a maior resistência ao fluxo do permeado ocorre pelo acúmulo de fragmentos da parede celular, consistindo principalmente de materiais como protopectina, celulose, hemicelulose e lignina (VAILLANT *et al.*, 1999). A pectina tem sido considerada o principal contribuinte no declínio do fluxo do permeado e por causar as maiores dificuldades durante as etapas de limpeza das membranas (CHO *et al.*, 2003).

Pouca atenção tem sido dada à influência da composição do suco na transferência de massa, nas propriedades das membranas e na qualidade final do suco clarificado (LUKANIN *et al.*, 2003). A clarificação de suco com alto teor de polpa é muito tediosa por causa da alta concentração de substâncias na camada *fouling* e a elevação da concentração do retentado durante o processo de MF. As altas concentrações das macromoléculas na superfície interna da membrana formam uma camada dinâmica, que em alguns casos se tornam uma barreira impermeável. Este fenômeno pode explicar porque as tecnologias de separações por membranas não são amplamente utilizadas pelas indústrias de polpas e sucos (VAILLANT *et al.*, 2001).

RAI *et al.* (2006) demonstraram que o fluxo do permeado de suco de laranja (cultivar Mosambi) não estava diretamente relacionado à porosidade das membranas (tamanho dos poros), mas ao crescimento e a porosidade da camada *fouling* sobre a superfície filtrante. LENCKI e RIEDL (1999) ao microfiltrarem suco de maçã (cultivar Red Delicious) observaram que na camada *fouling*, a interação das pectinas, taninos e proteínas influenciou na resistência e no comportamento desta camada, promovendo mudanças morfológicas. Concluíram que a otimização do fluxo do permeado é obtida quando a morfologia macroscópica da camada *fouling* se apresenta rígida, porém porosa. WELKE *et al.* (2009) observaram que houve interação do substrato sólido retido na microfiltração de suco de maçã com a patulina, com redução de até 20% desta micotoxina no suco clarificado.

Medidas eficazes para amenizar o *fouling* nas membranas filtrantes são fundamentais para viabilizar esta tecnologia. Estas medidas podem ser divididas em métodos físicos e métodos enzimáticos. Dentre os métodos físicos pesquisados, o uso de MF sucessivas para remoção de partículas em suspensão na concentração de enzimas foi estudado por LI *et al.* (2008). Este pré-tratamento promoveu a redução de *fouling*, durante o processo de concentração de enzimas. Outro método simples estudado por DORNIER *et al.* (1995) foi à elevação gradual na pressão transmembrana e na velocidade de fluxo do retentado. Comparado ao método tradicional de elevação rápida no início do processo de separação por membranas, os pesquisadores observaram que em caldo de cana fresco, este método elevou o fluxo do permeado entre 13 e 26%. Porém, sua aplicabilidade na indústria canavieira é limitada pela elevação do tempo de processo.

O uso de infrassom pulsante foi estudado por CZEKAJ *et al.* (2001). Esta técnica elevou o fluxo do permeado de vinho e cerveja em até quatro vezes, em comparação ao fluxo tangencial sem infrassom pulsante. Outro método pesquisado foi a injeção de nitrogênio gasoso, aspergido sob o vinho de abacaxi em baixo volume (fator de injeção de 0,15). Este método elevou o fluxo do permeado em até 138%. No entanto, houve redução na graduação alcoólica durante a MF (YOURAVONG *et al.*, 2010). A combinação de métodos (inversão pulsante no fluxo do permeado, retrolavagem, modificação da superfície da membrana e de sua porosidade) para amenizar o *fouling* foi estudada por MA *et al.* (2001). Os resultados indicaram que a inversão pulsante no fluxo do permeado em combinação com modificações na superfície das membranas foram os procedimentos mais efetivos na redução de *fouling* e elevação do fluxo do permeado.

O uso do pré-tratamento de polpas e sucos de frutas com enzimas vem sendo muito utilizado por ser um método eficaz, uma vez que a hidrólise enzimática eleva significativamente o fluxo transmembrana na MF (LUKANIN *et al.*, 2003). Este tratamento é efetivo em sucos com

baixo teor de polpa como o suco de caju, maracujá e abacaxi. No entanto, naqueles com alto teor de polpa, a MF apresenta dificuldades devido ao baixo fluxo do permeado. Evidentemente, uma maior ação enzimática é requerida, não somente para reduzir a viscosidade, mas para solubilizar polissacarídeos insolúveis oriundos das paredes celulares, os quais são retidos pela membrana filtrante. Logo, atenção especial deve ser dada nas formulações enzimáticas adequadas aos polissacarídeos em diversas polpas de frutas (VAILLANT *et al.*, 1999).

Na Tabela 1 são apresentadas as condições de hidrólise de diversos sucos de frutas, no pré-tratamento para a MF. As enzimas com atividades pectinolíticas foram utilizadas em quase todas as pesquisas, sendo que em alguns casos foram estudadas em sinergismos com celulasas e hemicelulasas (VAILLANT *et al.*, 1999; CLARETO e GARCÍA, 2007; CARVALHO *et al.*, 2008) ou com amilase (LEE *et al.*, 2006) e apenas um caso isolado de uso de protease para hidrolisar polpa de pitanga (ONGARATTO e VIOTTO, 2009). As concentrações de enzimas variaram de 0,0004 a 10%, mantidas em temperaturas de 25 a 60°C e por períodos de hidrólise de 20 a 150 minutos.

A hidrólise enzimática do abacaxi (cultivar Pérola) sob ação da pectinase + celulase resultou na redução da viscosidade aparente em 21%, sendo que esta diminuição chegou a 28% sob ação isolada da pectinase (CARVALHO *et al.*, 2008).

No pêsego, o tratamento enzimático reduziu a viscosidade em 68% e diminuiu o teor de polpa em 48%. Estes resultados foram alcançados numa concentração de pectinases (Pectinex AFPL-3) de 0,096% por 60 minutos de incubação a 25°C (SANTIN *et al.*, 2008).

As enzimas produzidas por *Aspergillus niger* (pectina liase e pectina metilesterase) foram as mais eficientes, resultando na completa clarificação do suco de maçã, em 90 minutos (MANTOVANI *et al.*, 2005). Para este mesmo suco (cultivar Red Delicious), a ação conjunta de

Tabela 1. Hidrólise enzimática em sucos de frutas, no pré-tratamento para microfiltração.

Fruta	Enzima	Concentração da enzima (%)	Temperatura (°C)	Tempo (min)	Resultados principais	Referência bibliográfica
Abacaxi (cultivar Pérola)	Pectinase	0,01 e 0,03	30,0	30,0 e 90,0	Redução da viscosidade aparente no suco de abacaxi em 28% sob ação da pectinase e em 21% em conjunto com a celulase.	CARVALHO <i>et al.</i> , 2008
	Pectinase + celulase	0,02 + 0,5	30,0	75,0		
Banana (cultivar Berangan)	Amilase	0,02	60,0	60,0	Condições ótimas na clarificação do suco de banana foram: 0,084% de pectinase a 43°C tempo de incubação de 80 minutos.	LEE <i>et al.</i> , 2006
	Pectinase	0,01-0,1	30,0-50,0	30,0-120,0		
Carambola	Pectinase, β -galacturonase	0,01-0,1	30,0-50,0	20,0-100,0	Condições ótimas de hidrólise: 0,1% das enzimas a 30°C por 20 minutos de incubação.	ABDULLAH <i>et al.</i> , 2007
Goiaba (cultivar Paluma)	Pectinases, hemicelulases e celulases	0,005-0,025	40,0	30,0-90,0	A utilização de 5mg/100g da enzima por 30 minutos de incubação foi considerada adequada para o pré-tratamento da polpa de goiaba para MF.	CLARETO e GARCÍA, 2007
Laranja (cultivar Mosambi)	Pectinase	0,0004-0,0014	32,0-49,0	40,0-141,0	Melhores condições de hidrólise do suco de laranja foram: 0,0004% da enzima na temperatura de 42°C num período de 99 minutos.	RAI <i>et al.</i> , 2004
Maçã	Pectina liase Pectina metilesterase Pectinase	10,0	40,0	90,0	As enzimas produzidas por <i>Aspergillus niger</i> - pectina liase e pectina metilesterase - foram as mais eficientes, resultando na completa clarificação do suco de maçã em 90 minutos.	MANTOVANI <i>et al.</i> , 2005
Manga	Petinex 3XL (Pectinases)	0,005-0,095	25,0-60,0	30,0-150,0	A mínima viscosidade aparente da polpa de manga foi alcançada na concentração enzimática de 0,1%, temperatura de 41°C por 77 minutos.	BHATTACHARYA <i>et al.</i> , 1998
Maracujá	Cytolase Rapidase Press Rapidase Liq ⁺ Rapidase Pomaliq 2F Ultrazym 100G	0,0-0,1	36,0	60,0	As melhores filtrações do suco de maracujá foram obtidas após a hidrólise com as enzimas comerciais Rapidase Pomaliq 2F e Rapidase Liq ⁺ , com atividades pectinolíticas e celulolíticas em sinergismo.	VAILLANT <i>et al.</i> , 1999
Pêssego	Pectinex AFPL-3 (Pectinases)	0,024-0,096	25,0 e 45,0	30,0-150,0	A maior redução no teor de polpa (48%) e na viscosidade (68%) foi obtida a 25°C por 60 minutos, com 0,1% da enzima.	SANTIN <i>et al.</i> , 2008
Pitanga	Protease	3,13	60,0	120,0	O tratamento enzimático melhorou o fluxo do permeado, mas ocasionou perdas sensoriais nos produtos obtidos.	ONGARATTO e VIOTTO, 2009
Sapoti	Pectinex 3X L (Transeliminase, poligalacturonase e pectina esterase)	0,03-0,1	30,0-50,0	30,0-120,0	As condições otimizadas da hidrólise do suco de sapoti foram 0,1% de enzima, incubada a 40,0C por 120 minutos.	SIN <i>et al.</i> , 2006
Tamarindo	Pectinex Ultra SP-L (Poligalacturonase)	0,0 e 0,01	35,0	60,0	Redução de 58% no teor de pectina pela ação da enzima a 0,01%, resultando no maior fluxo do permeado (114 kg/m ² h).	WATANABE e VIOTTO, 2007
Umbu	Pectinex Ultra SP-L (Poligalacturonase)	0,0; 0,005 e 0,01	35,0	60,0	O fluxo do permeado aumentou com elevação da concentração da enzima (0,01%), principalmente na pressão transmembrana de 1,1bar.	USHIKUBO e VIOTTO, 2006

poligalacturonase, pectina liase e pectina esterase formou muitos flocos de gel na camada *fouling*, camada esta rica em macroporosidades, mas baixa em microporosidades (YU e LENCKI, 2004).

Escolher uma membrana com poros maiores não significa necessariamente a obtenção de melhores fluxos, pois as partículas do soluto podem ter a mesma ordem de grandeza dos poros da membrana (ONGARATTO e VIOTTO, 2009).

Ação das enzimas comerciais Rapidase Pomaliq 2F e Rapidase Liq⁺, em atividades pectinolíticas e celulolíticas em sinergismo, resultou na melhor filtração do suco de maracujá (VAILLANT *et al.*, 1999). O uso de poligalacturonase comercial (Pectinex Ultra SP-L a 0,01%) em tamarindo reduziu o teor de pectina em 58% e aumentou o fluxo do permeado a 114Kg/m²h (WATANABE e VIOTTO, 2007). Em umbu, a ação da mesma enzima a 1,1bar de pressão elevou a permeação do suco (USHIKUBO e VIOTTO, 2006).

Nas outras frutas estudadas (banana, carambola, goiaba, laranja, manga, e sapoti) as condições ótimas de hidrólise demonstraram que para cada fruta há uma concentração ideal da(s) enzima(s), uma faixa de temperatura ótima e um tempo de hidrólise enzimática adequada para se reduzir à viscosidade aparente da polpa, melhorando o fluxo do permeado e o rendimento na obtenção do suco clarificado. Nestes estudos de hidrólise (BHATTACHARYA *et al.*, 1998; RAI *et al.*, 2004; LEE *et al.*, 2006; SIN *et al.*, 2006; ABDULLAH *et al.*, 2007; CLARETO e GARCÍA, 2007) se atribui a ação catalítica tão somente às enzimas adicionadas nas polpas e sucos de frutas. No entanto, não se pode negligenciar a atuação das enzimas nativas e descompartmentalizadas durante o processo de despulpamento. Uma vez que os sistemas enzimáticos nativos não são inativados, atividades enzimáticas antagônicas ou sinérgicas podem ocorrer dependendo da espécie e da cultivar frutífera pesquisada, bem como de fatores como a temperatura, o pH e presença de inibidores/ativadores enzimáticos durante a hidrólise.

O emprego da hidrólise enzimática no pré-tratamento de polpa de frutas não só melhora o fluxo do permeado e o desempenho da microfiltração, como facilita a liberação dos constituintes intracelulares, sendo um método auxiliar na extração de vários tipos de compostos de interesse (CHOUDHARI e ANANTHANARAYAN, 2007).

3. RETENÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS NA MICROFILTRAÇÃO DE ALIMENTOS

O uso da MF na clarificação de suco e na esterilização a frio, eliminando microrganismos e enzimas, tem sido um dos principais objetivos da pesquisa e da indústria de alimentos. Nos últimos anos, entretanto, os pesquisadores vêm se preocupando com os efeitos desta tecnologia nos compostos bioativos dos alimentos funcionais. Os processos de separações por membranas tanto podem ser usados para a clarificação dos sucos, como para concentração da polpa no retentado (USHIKUBO *et al.*, 2007). Logo, a migração dos ingredientes ativos para a fase aquosa (clarificado) ou sua afinidade pelo material fibroso (retentado) pode variar com a matriz alimentar, com a natureza dos compostos de interesse e com os parâmetros tecnológicos empregados na microfiltração.

Conforme pode ser visto na Tabela 2, a vitamina C foi o composto funcional mais estudado em MF. Em suco de acerola, o mais alto fluxo de permeação do suco e do ácido ascórbico se deu a 40°C (WANG *et al.*, 2005). A 30°C não foi detectada a perda desta vitamina após o processo de clarificação do suco de acerola (MATTA *et al.*, 2004a). No entanto, com a elevação da pressão transmembrana para 1,2 bar, MATTA *et al.* (2004b) observaram redução na concentração de ácido ascórbico durante a microfiltração, sendo estas perdas relacionadas ao

Tabela 2. Parâmetros técnicos e resultados principais da tecnologia de microfiltração nos compostos bioativos em alimentos funcionais.

Alimento	Composto bioativo	Tamanho de Poro (µm)	Área de permeação (m ²)	Temperatura (°C)	Pressão transmembrana (bar)	Resultados principais	Referência bibliográfica
Suco de laranja	Vitamina C	0,1	0,005	20, 25, 30, 35	2,5	No retentado, as perdas aumentaram de 6 a 18%, quando a temperatura elevou de 20°C para 35°C. No permeado estas perdas foram de 10 a 19%.	VENTURINI FILHO <i>et al.</i> , 2003
Suco de acerola	Vitamina C	0,30	0,05	30,0	1,0	Não foi detectada perda de vitamina C após o processo de clarificação do suco de acerola	MATTA <i>et al.</i> , 2004a
Suco de acerola	Vitamina C	0,30	NC	NC	1,2	A redução na concentração de ácido ascórbico durante a MF foi atribuída a sua possível oxidação, relacionada ao desenho inadequado do sistema piloto, que induz à formação de vórtex (movimento circular) no tanque de alimentação do sistema.	MATTA <i>et al.</i> , 2004b
Suco de acerola	Ácido ascórbico	0,14	0,1	10, 20, 30, 40	2,0	O mais alto fluxo de permeação do suco e do ácido ascórbico se deu a 40°C.	WANG <i>et al.</i> , 2005
Suco de maçã	Vitamina C	0,1	0,07	95,0	0,5-3,0	A MF do suco de maçã não degradou a vitamina C no permeado.	YOUN <i>et al.</i> , 2004
Suco de caju	Vitamina C	0,30	0,05	30,0	0,2	A redução no teor de ácido ascórbico no suco clarificado foi causada pela aeração durante a MF. Na estocagem a 4°C por um mês, 82% da vitamina foi preservada.	CAMPOS <i>et al.</i> , 2002
Suco de caju	Vitamina C	0,30	0,05	30,0	2,2	As perdas de vitamina C no suco clarificado foram atribuídas às diluições (água na tubulação – volume morto) e oxidação durante o bombeamento.	CIANCI <i>et al.</i> , 2005
Suco de caju	Vitamina C Miricetina Quercetina	0,20	0,02	40,0	1,5	O suco de caju, pré-tratado e microfiltrado, apresentou teores de vitamina C significativamente menores no permeado e no retentado em relação ao suco original. Os teores de miricetina e quercetina no suco clarificado não diferiram significativamente ao do suco inicial, sendo os maiores valores observados no retentado.	BOMBONATI e RODRIGUEZ-AMAYA, 2009
Suco de melão (cultivar Veracruz)	Vitamina C Polifenóis β-Caroteno	0,20	0,24	35,0	1,5	As perdas de vitamina C chegaram a 7% no permeado e 33% no retentado. Para os polifenóis estas perdas foram de 19% no suco permeado e de 57% no retentado. Não foi observada a permeação do β-caroteno, nem sua isomerização ou oxidação no retentado.	VAILLANT <i>et al.</i> , 2005
Polpa de pitanga	Ac. Ascórbico Carot. totais	0,15 e 0,20	0,01	60,0	2,0	No permeado, houve perdas acentuadas de ácido ascórbico pelo contato direto com ar durante a MF. Não houve permeação de carotenóides pelas membranas.	ONGARATTO e VIOTTO, 2009
Polpa de goiaba (cultivar Paluma)	Licopeno	0,20	0,02	20, 25, 30, 35 e 40	1,5-2,9	Na MF da polpa de goiaba pré-tratada e microfiltrada, o licopeno não permeou, ficando 100% no retentado. O maior aumento da concentração do licopeno retido foi verificado a 30°C e na pressão transmembrana de 2,9bares.	CLARETO e GARCÍA, 2007
Suco de abacaxi	Pigmentos (carotenóides)	0,03	0,05	NC	2,0	Os pigmentos (carotenóides) responsáveis pela cor do suco foram retidos pela membrana.	SÁ <i>et al.</i> , 2003
Suco de maracujá	Pigmentos (carotenóides)	0,2	0,2	35,0	2,5	Para todos os parâmetros analisados, não houve diferenças entre o retentado e o permeado exceto na cor, uma vez que os carotenóides não permearam.	VERA <i>et al.</i> , 2009
Hortaliça folhosa (<i>Perilla frutescens</i>)	Apigenina Luteonina Cianidinas	0,20	0,304	20,0	0,6	No permeado, as concentrações das flavonas (apigenina e luteonina) se mantiveram, mas elevou a da antocianina (cianidina), em relação ao extrato aquoso cru.	MENG <i>et al.</i> , 2006
Casca de laranja (cultivar Mandarin)	Polifenóis Flavonóides Carotenóides	0,20	0,1	25,0	1,0	No retentado, houve redução de 57% dos polifenóis e de flavonóides. O teor de carotenóides reduziu 33%, após 6 filtrações com solução de NaOH.	CHO <i>et al.</i> , 2003

MF Microfiltração; NC Não Citado.

desenho inadequado do sistema piloto, que induziu a formação de vórtex (turbulência) no tanque de alimentação do sistema.

Em suco de laranja, o teor de vitamina C caiu com o aumento da temperatura. No retentado, estas perdas chegaram de 6 a 18%, quando a temperatura elevou de 20 para 35°C. No permeado estas perdas foram de 10 a 19% (VENTURINI FILHO *et al.*, 2003).

No suco de caju hidrolisado, os teores de vitamina C foram significativamente menores no permeado e no retentado em relação ao suco original (BOMBONATI e RODRIGUEZ-AMAYA, 2009). Estas perdas, segundo os autores, podem ser justificadas pela interação dos componentes da polpa com a membrana e pela incorporação de oxigênio à polpa durante MF.

A redução no teor de vitamina C no suco clarificado de caju pré-tratado com enzimas foi também observada por CAMPOS *et al.* (2002) e CIANCI *et al.* (2005), possivelmente causada por diluições (água na tubulação – volume morto) e oxidações durante o bombeamento e pela aeração durante a MF. No entanto, na estocagem do suco clarificado a 4°C por um mês, cerca de 82% da vitamina C permeada foi preservada.

Em suco de melão (cultivar Veracruz), as perdas de vitamina C chegaram a 7% no permeado e a 33% no retentado (VAILLANT *et al.*, 2005).

No permeado de polpa de pitanga houve perdas acentuadas de ácido ascórbico pelo contato direto com o ar durante a MF (ONGARATTO e VIOTTO, 2009). No suco de maçã, no entanto, a MF não promoveu a degradação da vitamina C no permeado (YOUN *et al.*, 2004). Estas pesquisas indicam que a retenção da vitamina C no suco clarificado por MF variou entre as matrizes alimentares e com o tempo e a temperatura de hidrólise enzimática empregados, bem como pelo grau de exposição da vitamina C ao oxigênio atmosférico durante o bombeamento do retentado nos sistemas de microfiltração utilizados.

Na casca de laranja (cultivar Mandarin) microfiltrada, foi constatada uma redução na concentração dos polifenóis de 57% no retentado (CHO *et al.*, 2003). No suco de melão as perdas de polifenóis foram de 19% no suco clarificado e de 57% no retentado. (VAILLANT *et al.*, 2005).

Em extrato aquoso de *Perilla frutescens* (hortaliça folhosa bastante consumida em países orientais), as concentrações de flavonas (apigenina e luteonina) se mantiveram no retentado, mas elevou a da antocianina cianidina, em relação ao extrato aquoso cru (MENG *et al.*, 2006). Em suco de caju, os teores de flavonóis (miricetrina e quercetina) no suco clarificado não diferiram significativamente em comparação aos do suco inicial, sendo os maiores valores observados no retentado (BOMBONATI e RODRIGUEZ-AMAYA, 2009).

A concentração de sucos é tradicionalmente realizada através do uso de temperaturas elevadas por tempo prolongado, que promovem perdas de compostos funcionais termossensíveis. Os processos utilizando membranas surgem como uma alternativa aos processos convencionais de concentração (SÁ *et al.*, 2003). Em polpa de goiaba pré-tratada CLARETO e GARCÍA (2007) relataram 100% de retenção do licopeno na membrana, sendo a maior concentração verificada a 30°C e na pressão transmembrana de 2,9bares. Em suco de abacaxi (SÁ *et al.*, 2003) e de maracujá (VERA *et al.*, 2009) e em polpa de pitanga (ONGARATTO e VIOTTO, 2009) os carotenóides foram também concentrados no retentado. O β -caroteno encontrado no suco de melão foi retido, e não sendo observado sua isomerização nem oxidação no retentado (VAILLANT *et al.*, 2005).

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

As microfiltrações de sucos e polpas de frutas promoveram perdas de vitamina C, principalmente relacionadas à exposição ao oxigênio, durante o bombeamento. Para os flavonóides houve uma tendência de maiores concentrações no retentado.

Estas pesquisas demonstraram que em todos os alimentos carotenogênicos estudados, estes pigmentos foram retidos pelas fibras e membranas filtrantes e, portanto, a MF serve para concentrá-los. O retentado, porém, concentra também os microrganismos e as enzimas que devem ser inativados. Portanto, novas pesquisas de aplicações da tecnologia de microfiltração de sucos e polpas de frutas devem focar não somente a obtenção de sucos clarificados e isentos de enzimas e microrganismos, mas no aproveitamento desta tecnologia para a concentração de compostos como os carotenóides. Neste caso a MF deve ser combinada com outro processo, provavelmente um tratamento térmico, para inativar enzimas e microrganismos no retentado, sem degradação significativa da substância de interesse.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDULLAH, A. G. L.; SULAIMAN, N. M.; AROUA, M. K.; NOOR, M. J. M. M. Response surface optimization of conditions for clarification of carambola fruit juice using a commercial enzyme. **Journal of Food Engineering**, 81, 65-71, 2007.
- BHATTACHARYA, S.; RASTOGI, N. K. Rheological properties of enzyme-treated mango pulp. **Journal of Food Engineering**, 36, 249-262, 1998.

- BOMBONATI, A. Y.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **Flavonóis em frutas e hortaliças – efeito do cozimento e microfiltração**. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. 2009.
- CAMPOS, D. C. P.; SANTOS, A. S.; WOLKOFF, D. B.; MATTA, V. M.; CABRAL, L. M. C.; COURI, S. Cashew apple juice stabilization by microfiltration. **Desalination**, 148, 61-65, 2002.
- CARVALHO, L. M. J.; CASTRO, I. M.; SILVA, C. A. B. A study of retention of sugars in the process of clarification of pineapple juice (*Ananas comosus* L. Merrill) by micro- and ultra-filtration. **Journal of Food Engineering**, 87, 477-454, 2008.
- CASSANO, A.; DRIOLI, E.; GALAVERNA, G.; MARCHELLI, R.; DI SILVESTRO, G.; CAGNASSO, P. Clarification and concentration of citrus and carrot juices by integrated membrane processes. **Journal of Food Engineering**, 57, 153-163, 2003.
- CHO, C-W.; LEE, D-Y.; KIM, C-W. Concentration and purification of soluble pectin from mandarin peels using crossflow microfiltration system. **Carbohydrate Polymers**, 54, 21-26, 2003.
- CHOUDHARI, S. M.; ANANTHANARAYAN, L. Enzyme aided extraction of lycopene from tomato tissues. **Food Chemistry**, 102, 77-81, 2007.
- CIANCI, F. C.; SILVA, L. F. M.; CABRAL, L. M. C.; MATTA, V. M. Clarificação e concentração de suco de cajá por processo com membranas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 25, 579-583, 2005.
- CLARETO, S. S.; GARCÍA, N. H. P. **Estudo da concentração de licopeno da polpa de goiaba utilizando o processo de microfiltração**. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. 2007.

- CONSTENLA, D. T.; LOZANO, J. E. Hollow fiber ultrafiltration of apple juice: macroscopic approach. **Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie**, 30, 373-378, 1997.
- CZEKAJ, P.; LÓPEZ, F.; GUELL, C. Membrane fouling by turbidity constituents of beer and wine: characterization and prevention by means of infrasonic pulsing. **Journal of Food Engineering**, 49, 25-36, 2001.
- DORNIER, M.; PETERMANN, R.; DECLoux, M. Influence of start-up procedure on crossflow microfiltration of raw cane sugar. **Journal of Food Engineering**, 24, 213-224, 1995.
- GALAVERNA, G.; DI SILVESTRO, G.; CASSANO, A.; SFORZA, S.; DOSSENA, A.; DRIOLI, E.; MARCHELLI, R. A new interacted membrane process for the production of concentrated blood orange juice: effect on bioactive compounds and antioxidant activity. **Food Chemistry**, 106, 1021-1030, 2008.
- JIAO, B.; CASSANO, A.; DRIOLI, E. Recent advances on membrane process for the concentration of fruit juices: a review. **Journal of Food Engineering**, 63, 303-324, 2004.
- LEE, W. C.; YUSOF, S.; HAMID, N. S. A.; BAHARIN, B. S. Optimizing conditions for enzymatic clarification of banana juice using response surface methodology (RSM). **Journal of Food Engineering**, 73, 55-63, 2006.
- LENCKI, R. W.; RIEDL, K. Effect of fractal flocculation behavior on fouling layer resistance during apple juice microfiltration. **Food Research International**, 32, 279-288, 1999.
- LI, Z-Y.; YOURAVONG, W.; H-KITTIKUN, A. Removal of suspended particles from extract of tuna spleen by microfiltration: experimental evaluation of a low fouling condition. **Journal of Food Engineering**, 85, 309-315, 2008.

- LIRA, H. L.; SILVA, M. C. D.; VASCONCELOS, M. R. S.; LIRA, H. L.; LOPEZ, A. M. Q. Microfiltração do soro de leite de búfala utilizando membranas cerâmicas como alternativa ao processo de pasteurização. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 29, 33-37, 2009.
- LUKANIN, O. S.; GUNKO, S. M.; BRYK, M. T.; NIGMATULLIN, R. R. The effect of content of apple juice biopolymers on the concentration by membrane distillation. **Journal of Food Engineering**, 60, 275-280, 2003.
- MA, H.; HAKIM, L. F.; BOWMAN, C. N.; DAVIS, R. H. Factors affecting membrane fouling reduction by surface modification and backpulsing. **Journal of Membrane Science**, 189, 2255-270, 2001.
- MAGALHÃES, P.; GOMES, F. S.; MODESTA, R. C. D.; MATTA, V. M.; CABRAL, L. M. C. Conservação de água de coco verde por filtração com membranas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 25, 72-77, 2005.
- MANTOVANI, C. F.; GEIMBA, M. P.; BRANDELLI, A. Enzymatic clarification of fruit juices by fungal pectin lyase. **Food Biotechnology**, 19, 173-181, 2005.
- MATTA, V. M.; MORETTI, R. H.; CABRAL, L. M. C. Microfiltration and reverse osmosis for clarification and concentration of acerola juice. **Journal of Food Engineering**, 61, 477-482, 2004a.
- MATTA, V. M.; CABRAL, L. M. C.; SILVA, L. F. M. Suco de acerola microfiltrado: avaliação da vida-de-prateleira. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 24, 293-297, 2004b.
- MENG, L.; LOZANO, Y.; BOMBARDA, I.; GAYDOU, E.; LI, B. Anthocyanin and flavonoid production from *Perilla frutescens*: pilot plant scale processing including cross-flow microfiltration and reverse osmosis. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, 54, 4297-4303, 2006.

- MONDOR, M.; GIRARD, B.; MORESOLI, C. Modeling flux behavior for membrane filtration of apple juice. **Food Research International**, 33, 539-548, 2000.
- NOGUEIRA, A. M. P.; VENTURINI FILHO, W. G. Ultra e microfiltração de licor de acerola. . **Brazilian Journal of Food Technology**, 8, 305-311, 2005.
- ONGARATTO, R. S.; VIOTTO, L. A. Clarificação do suco de pitanga (*Eugenia uniflora* L.) e concentração de carotenóides por microfiltração e ultrafiltração. **Brazilian Journal of Food Technology**, VII Brazilian Meeting on Chemistry of Food and Beverages, 85-93, 2009.
- RAI, P.; MAJUMDAR, G. C.; DASGUPTA, S.; DE, S. Optimizing pectinase usage in pretreatment of mosambi juice for clarification by response surface methodology. **Journal of Food Engineering**, 64, 397-403, 2004.
- RAI, P.; MAJUMDAR, G. C.; SHARMA, G.; DAS GUPTA, S.; DE, S. Effect of vários cutoff membranes on permeate flux and quality during filtration of mosambi (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) juice. **Food and Bioproducts Processing**, 84, 213-219, 2006.
- SÁ, I. S.; CABRAL, L. M. C.; MATTA, V. M. Concentração de suco de abacaxi através dos processos com membranas. **Brazilian Journal of Food Technology**, 6, 53-62, 2003.
- SALAZAR, F. N.; BRUIJN, J. P. F.; SEMINARIO, L.; GUELL, C.; LÓPEZ, F. Improvement of wine crossflow microfiltration by a new hybrid process. **Journal of Food Engineering**, 79, 1329-1336, 2007.
- SANTIN, M. M.; TREICHEL, H.; VALDUGA, E.; CABRAL, L. M. C.; DI LUCCIO, M. Evaluation of enzymatic treatment of peach juice using response surface methodology. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 88, 507-512, 2008.

- SIN, H. N.; YUSOF, S.; HAMID, N. S. A.; RAHMAN, R. A. Optimization of enzymatic clarification of sapodilla juice using response surface methodology. **Journal of Food Engineering**, 73, 313-319, 2006.
- USHIKUBO, F. Y.; VIOTTO, L. A. **Efeito do tratamento enzimático, da velocidade tangencial e da pressão transmembrana na microfiltração da polpa diluída de umbu (*Spondias tuberosa* Arr. Cam.)**. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. 2006.
- USHIKUBO, F. Y.; WATANABE, A. P.; VIOTTO, L. A. Microfiltration of umbu (*Spondias tuberosa* Arr. Cam.) juice. **Journal of Membrane Science**, 288, 61-66, 2007.
- VAILLANT, F.; MILLAN, P.; O'BRIEN, G.; DORNIER, M.; DECLoux, M.; REYNES, M. Crossflow microfiltration of passion fruit juice after partial enzymatic liquefaction. **Journal of Food Engineering**, 42, 215-224, 1999.
- VAILLANT, F.; MILLAN, A.; DORNIER, M.; DECLoux, M.; REYNES, M. Strategy for economical optimization of clarification of pulpy fruit juices using crossflow microfiltration. **Journal of Food Engineering**, 48, 83-90, 2001.
- VAILLANT, F.; CISSE, M.; CHAVERRI, M.; PEREZ, A.; DORNIER, M.; VIQUEZ, F.; DHUIQUE-MAYER, C. Clarification and concentration of melon juice using membrane processes. **Inovative Food Science and Emerging Technologies**, 6, 213-220, 2005.
- VENTURINI FILHO, W. G.; DORNIER, M.; BELLEVILLE, M. P. Tangential microfiltration of orange juice in bench pilot. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 23, 330-336, 2003.
- VERA, E.; SANDEAUX, J.; PERSIN, F.; POURCELLY, G.; DORNIER, M.; RUALES, J. Deacidification of passion fruit juice by electrodialysis with bipolar membrane after different pretreatments. **Journal of Food Engineering**, 90, 67-73, 2009.

- WANG, B-J.; WEI, T-C.; YU, Z-R. Effect of operating temperature on component distribution of West Indian cherry juice in a microfiltration system. **Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie**, 38, 683-689, 2005.
- WATANABE, A. P.; VIOTTO, L. A. **Microfiltração de suco de tamarindo (*Tamarindus indica* L.) por membrana polimérica: efeito do tratamento enzimático, da velocidade tangencial e da pressão transmembrana**. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. 2007.
- WELKE, J. E.; HOELTZ, M.; DOTTORI, H. A.; NOLL, I. B. Effect of processing stages of apple juice concentrate on patulin levels. **Food Control**, 20, 48-52, 2009.
- YOUN, K-S.; HONG, J-H.; BAE, D-H.; KIM, S-J.; KIM, S-D Effective clarifying process of reconstituted apple juice using membrane filtration with filter-aid pretreatment. **Journal of Membrane Science**, 288, 179-186, 2004.
- YOURAVONG, W.; LI, Z.; LAORKO, A. Influence of gas sparging on clarification of pineapple wine by microfiltration. **Journal of Food Engineering**, 96, 427-432, 2010.
- YU, J.; LENCKI, R. W. Effect of enzyme treatments on the fouling behavior of apple juice during microfiltration. **Journal of Food Engineering**, 63, 413-423, 2004.

CAPÍTULO 4

Otimização da microencapsulação por *spray drying* da polpa de pitanga (*Eugenia uniflora* L.). Retenção de carotenóides e flavonóides

JOSÉ EMILSON MACÊDO FERREIRA

CARLOS RAIMUNDO F. GROSSO

DELIA B. RODRIGUEZ-AMAYA

Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Departamento de
Ciência de Alimentos, Campinas, SP, Brasil.

RESUMO

O Brasil apresenta grande diversidade de ecossistemas com uma flora rica em compostos bioativos. A pitanga (*Eugenia uniflora* L.) é uma fruta nativa brasileira e fonte dos carotenóides licopeno, β -criptoxantina, rubixantina, luteína e β -caroteno e dos flavonóides miricetina, quercetina e kaempferol. A microencapsulação por *spray drying* da polpa de pitanga foi realizada para avaliar simultaneamente os efeitos da temperatura de entrada e da relação polpa:material de parede (maltodextrina, amido modificado ou goma arábica) na retenção de carotenóides e flavonóides. Na otimização das condições de processo, a temperatura de secagem de 150°C foi a que promoveu a melhor retenção dos carotenóides e dos flavonóides da polpa de pitanga, numa proporção de 25% de polpa e 75% de material de parede. A goma arábica apresentou a melhor eficiência da microencapsulação e promoveu a maior retenção.

Palavras chave: Pitanga; microencapsulação; carotenóides; flavonóides.

ABSTRACT

Brazil has great ecosystem diversity with a flora rich in bioactive compounds. Pitanga (*Eugenia uniflora* L.) is a native Brazilian fruit, which is a source of the carotenoids lycopene, β -cryptoxanthin, rubixanthin, lutein and β -carotene, and of the flavonoids myricetin, quercetin and kaempferol. Microencapsulation by spray drying of the pitanga pulp was carried out to simultaneously evaluate the effects of the inlet temperature and the ratio pulp:wall material (maltodextrin, modified starch or gum Arabic) in carotenoids and flavonoids retentions. In the optimization of the process conditions, a drying temperature of 150°C promoted the best retention of carotenoids and flavonoids of the pitanga pulp, at a proportion of 25% pulp and 75% wall material. Gum Arabic had better microencapsulation efficiency and promoted greater retention.

Key words: Pitanga, microencapsulation, carotenoids, flavonoids.

1. INTRODUÇÃO

A tecnologia da microencapsulação tem sido amplamente usada na indústria farmacêutica na proteção de princípios ativos, com numerosas aplicações. Em alimentos, o seu uso é recente, mas os estudos estão avançados em relação aos compostos responsáveis pelos aromas, mas ainda limitados em termos de pigmentos naturais e fitoquímicos bioativos.

Nos últimos anos, com o aumento da demanda por parte dos consumidores de alimentos fontes de substâncias bioativas, cresceu o interesse da indústria por formulações ricas nestes compostos. Dentre estes, os carotenóides e os flavonóides são exemplos de fitoquímicos antioxidantes capazes de sequestrar oxigênio singlete, reagir com radicais livres e atuar como quelantes de metais (TERAO e PISKULA, 1999; PRIOR e CAO, 2000; KRINSKY, 2001; POLYAKOV *et al.*, 2001; KRINSKY e YEUM, 2003) e assim associados ao baixo risco de doenças cardiovasculares (HERTOG *et al.*, 1995; YOCHUM *et al.*, 1999; D'ODORICO *et al.*, 2000), alguns tipos de câncer (KNEKT *et al.*, 1997; NEUHOUSER, 2004; HUNG *et al.*, 2006; KIM *et al.*, 2007) e no caso dos carotenóides, degeneração macular e catarata (RICHER *et al.*, 2004).

Entre os métodos utilizados na microencapsulação, a secagem por *spray drying* é um dos mais bem conhecidos e economicamente viáveis (WAGNER e WARTHESEN, 1995). Esta técnica se baseia na preparação de uma solução/emulsão/dispersão com uma fase dispersa (material a ser microencapsulado) e uma fase contínua (material de parede). A água é evaporada no *spray drying* e os polímeros encapsulantes formam uma matriz seca que envolve o material de recheio (BEATUS *et al.*, 1985). Usando apropriado material de parede, os compostos microencapsulados podem ser protegidos da deterioração causada por condições ambientais adversas, tais como luz, umidade e oxigênio (AHN *et al.*, 2008). O aquecimento e a exposição à

luz durante o processo de secagem por *spray drying* limitam o uso desta tecnologia em produtos termossensíveis (GHARSALLAOUI *et al.*, 2007). Outra limitação na aplicação de microencapsulação para fins alimentares é o número restrito de materiais de parede que podem ser usados (DESAI e PARK, 2005; GHARSALLAOUI *et al.*, 2007). Uma vez que os alimentos são predominantemente aquosos, os agentes microencapsulantes devem apresentar certo grau de solubilidade neste meio (GOUIN, 2004). Materiais de parede como gomas, amidos modificados, pectinas, maltodextrina, e proteínas de soro de leite vêm sendo pesquisados (DIOSADY *et al.*, 2002; O'BRIEN *et al.*, 2003; SOOTTITANTAWAT *et al.*, 2005; DRUSCH, 2007; LOKSUWAN, 2007; KSHIRSAGAR e SINGHAL, 2008) por serem de grau alimentício, não serem reativos com o material de recheio e serem de fácil aquisição e de baixo custo.

O Brasil apresenta grande diversidade de ecossistemas que disponibilizam uma flora rica em compostos bioativos promotores da saúde humana. A pitangueira (*Eugenia uniflora* L.) é uma planta típica brasileira, que cresce em regiões de clima tropical e subtropical, sendo encontrada desde as Guianas e se estendendo até o estado de São Paulo-BR (SILVA, 2006). Por ser um fruto sazonal e de elevada perecibilidade (sujeito a injúrias mecânicas, deterioração fisiológica, perda de água e podridão), sua comercialização se dá próxima das regiões produtoras ou na forma de polpa congelada (SANTOS *et al.*, 2006).

Estudos têm demonstrado que esta fruta contém diferentes classes de compostos como os carotenóides (LIMA *et al.*, 2002; PORCU e RODRIGUEZ-AMAYA, 2004; AZEVEDO-MELEIRO e RODRIGUEZ-AMAYA, 2004), os flavonóides (HOFFMANN-RIBANI e RODRIGUEZ-AMAYA, 2009), vitamina C e fibras (FREYRE *et al.*, 2000), que são substâncias funcionais que podem ter forte associação com a redução do risco de se desenvolver doenças crônicas não transmissíveis.

Esta pesquisa teve como objetivo otimizar as condições de microencapsulação da polpa de pitanga por *spray drying*, visando a maior retenção de carotenóides e flavonóides.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Amostras e materiais de parede. A pitanga recém despulpada e embalada foi adquirida no Centro de Abastecimento Alimentar de Pernambuco (CEASA/Recife) e transportada, via aérea, para processamento imediato. Os materiais de parede foram a maltodextrina DE 17-19,9 (MD) GLOBE 1820, doada pela Corn Product Brazil, Mogi Guaçu, SP; amido modificado (AM) CAPSUL[®], doado por National Starch Brazil, Trombudo Central, SC; e goma arábica (GA) doada por Colloides Naturels Brazil – Instant Gum BA, São Paulo, SP.

2.2. Reagentes e padrões. Os ácidos fórmico, ascórbico e clorídrico, acetona, éter etílico e éter de petróleo foram de grau analítico e adquiridos da Labsynth Ltda. (São Paulo, SP). Acetonitrila, metanol e acetato de etila, grau HPLC, foram comprados da Mallinckrodt Baker (Philipsburg, EUA). Todas as fases móveis foram filtradas em filtros de politetrafluoretileno (PTFE) da Millipore (São Paulo, SP), com poros de 0,22µm de diâmetro. Os padrões de miricetina (M), quercetina (Q) e Kaempferol (K) foram adquiridos da Sigma Chemicals Co. (St. Louis, EUA). As soluções estoque dos padrões foram preparadas pela dissolução de cada flavonóide em metanol grau cromatográfico, em concentração de aproximadamente 500 µg/mL e conservados a -18°C, protegidos da luz, com validade de 2 meses, nestas condições. Os padrões de carotenóides foram isolados por cromatografia em coluna aberta, seguindo metodologia descrita por KIMURA e RODRIGUEZ-AMAYA (2002).

2.3. Delineamento experimental. Foi utilizado o Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) para avaliar simultaneamente os efeitos da temperatura de entrada no *spray dryer* e da

relação polpa:material de parede nas concentrações de carotenóides e flavonóides, utilizando o planejamento 2^2 , incluindo 4 ensaios nas condições axiais e 3 repetições no ponto central, executados por ordem de sorteio (Tabela 1). Os resultados foram analisados estatisticamente, utilizando-se o “Software Statistic for Windows”, versão 6.0 da STATSOFT. A análise de variância (ANOVA) com o teste de Fisher (5%) foi utilizada para determinar a significância dos modelos obtidos e a adequação dos modelos na obtenção das superfícies de resposta. As respostas medidas foram as concentrações de carotenóides e de flavonóides retidos em toda a microcápsula.

Tabela 1. Fatores e níveis (valores codificados entre parênteses) para o Delineamento Composto Central Rotacional.

Fatores	Níveis codificados				
	Ponto axial inferior (-1,41)	Nível inferior (-1)	Nível intermediário (0)	Nível superior (+1)	Ponto axial superior (+1,41)
Temperatura de entrada (°C)	150	157	175	193	200
Polpa:material parede (% g/g)	5,9:94,1	10:90	20:80	30:70	34,1:65,9

2.4. Preparação dos ensaios e secagem em *spray dryer*. A polpa de pitanga e os materiais de parede foram pesados nas proporções relativas a cada ensaio (baseado no peso seco). A homogeneização das soluções/dispersões em meio aquoso foi feita com o auxílio de homogeneizador Polytron (PT-2100, Kinematica GA, Luzernerstrasse, Alemanha), a 15.000rpm por 5 minutos e em temperatura ambiente. Durante a secagem por *spray drying* (Lab-Plant, modelo SD-04, Huddersfield, Grã Bretanha) as soluções/dispersões foram mantidas sob agitação contínua (agitador mecânico com barra magnética) a 30°C. A temperatura de entrada no equipamento variou de 150 a 200°C (Tabela 1). A pressão do ar foi de 5kgf/cm², num fluxo de 13mL/minuto e com bico aspersor de 2mm.

2.5. Caracterização morfológica e distribuição e tamanho das microcápsulas. As microcápsulas produzidas com diferentes materiais de parede foram analisadas quanto à morfologia, a distribuição e ao tamanho das partículas. Para observação morfológica, as microcápsulas foram fixadas em fita adesiva de dupla face e recobertas com camada de ouro em evaporador Balzers (modelo SCD 050, Park Scotia Corp, Nova York, EUA) por 75 segundos em uma corrente elétrica de 40mA e observadas em microscópio eletrônico de varredura (modelo JSM – T300, El-Sol Technologies Ltd., Natanya, Israel). A análise da distribuição e tamanho de partícula por difração a laser foi realizada no Mastersizer (Malvern 2000, Worcestershire, Grã Bretanha) e baseou-se no padrão de difração de partículas com mesmo tamanho que converge para um mesmo ponto, independente das suas respectivas localizações dentro da célula de amostra.

2.6. Determinação do teor de umidade. O teor de umidade das polpas de pitanga e dos materiais de parede (MD, AM e GA) e das microcápsulas foi determinado gravimetricamente. Amostras de 10g, em triplicata, foram colocadas em estufa a vácuo (TECNAL, TE 395, Piracicaba, SP) e mantidas a 35°C por até 16 horas ou até peso constante.

2.7. Determinação de carotenóides na polpa de pitanga e em toda a microcápsula (TC). Na polpa de pitanga e após a hidratação das microcápsulas, os carotenóides foram extraídos com acetona fria, seguido de partição ao éter de petróleo com éter etílico, saponificação (KOH 10%), lavagem e concentração em rotaevaporador, conforme metodologia descrita por PORCU e RODRIGUEZ-AMAYA (2004). Os extratos foram secos com nitrogênio, dissolvidos em 1-3mL

de acetona, filtrado em filtro de politetrafluoretileno (PTFE) 0,22µm de poro e 10µL foram injetados no cromatógrafo. As análises cromatográficas dos carotenóides foram realizadas em um

módulo de separação da Waters Corp. (modelo 2690, Milford, EUA), equipado com injetor automático, bomba quaternária, degasseificador a vácuo para 4 canais e detector de arranjo de diodos UV-visível (modelo Waters 996) controlados do “software” Millennium (versão 2010). A coluna foi C18 monomérica Spherisorb ODS2, (4,6 x 150mm, 3µm) (Waters Corp., Milford, Massachusetts, EUA). A fase móvel foi composta por metanol, acetato de etila e acetonitrila, eluição por gradiente côncavo (curva10) de 10:0:90 até 20:20:60 em 60 minutos, numa vazão de 0,5mL/min. O reequilíbrio se deu em 15 minutos. A detecção foi feita no comprimento de onda máximo para cada carotenóide.

2.8. Determinação dos carotenóides na superfície externa das microcápsulas. A extração dos carotenóides nas superfícies externas das microcápsulas seguiu a metodologia descrita por KSHIRSAGAR e SINGHAL (2008). Após adição de 100mL de éter de petróleo, a amostra (5g) foi mantida sob agitação contínua por 10 minutos em temperatura ambiente (25°C). A concentração dos carotenóides internos nas microcápsulas é obtida pela diferença entre a concentração em toda a microcápsula e na superfície externa.

2.9. Eficiência da microencapsulação (EM). Este parâmetro baseou-se na quantidade total de carotenóides na polpa efetivamente microencapsulada (TC) em relação à pré-existente na polpa de pitanga (CS) em base seca. A EM teve como base a análise de carotenóides (Item 2.7) e foi calculada de acordo com a fórmula descrita por PAULETTI e AMESTROY (1999):

$$\% \text{ EM} = 100 - [(CS - TC)/CS] \times 100.$$

2.10. Determinação de flavonóides. Os flavonóides da polpa de pitanga e das microcápsulas foram determinados conforme metodologia descrita por HOFFMANN-RIBANI e RODRIGUEZ-AMAYA (2008). Em 15g de cada amostra foram adicionados 25mL de metanol e 10mL de HCl com 0,04% de ácido ascórbico. A hidrólise dos flavonóides foi realizada numa concentração de

0,6M HCl em 40 minutos a 90°C Os extratos resfriados foram completados a 50mL com metanol, filtrados em peneira de 130mesh e depois por filtro (PTFE) Millipore de 0,22µm de diâmetro, para análise por CLAE. As análises cromatográficas dos flavonóides foram realizadas em módulo de separação da Waters (modelo 2690, Milford, EUA), equipado com injetor manual “Rheodyne” (modelo 7725i), bomba quaternária e degasseificador DG401 a vácuo para 4 canais e detector de arranjo de diodos UV-visível (modelo Waters 996), controlados do “software” Millennium (versão 32). A coluna de separação foi Symmetry C18 (2,1 x 150mm, 3,5µm) (Waters Corp., Milford, Massachusetts, EUA), sendo a detecção fixada em 370nm e espectros na faixa de 200-600nm. A fase móvel foi composta de metanol e água acidificados com 0,3% de ácido fórmico, num gradiente multilinear na proporção inicial de 20:80 até 48:52 em 6 minutos, sendo mantida até 29 minutos, em seguida mudada para 28:72 em 2 minutos e mantida esta proporção até 40 minutos de corrida cromatográfica. Finalmente, a fase móvel foi retornada a condição inicial (20:80) em 3 minutos e mantida nesta condição até 60 minutos para o reequilíbrio da coluna para a próxima injeção. O fluxo foi de 0,2mL/minuto e o volume de amostra injetado foi de 10µL.

A identificação dos carotenóides e flavonóides foi realizada por comparação dos tempos de retenção, co-cromatografia e com os espectros de absorção dos padrões. A quantificação foi por padronização externa. Curvas de calibrações foram construídas pela injeção, em triplicatas, de soluções-padrão em cinco concentrações crescentes, cobrindo a faixa de concentração esperada nas amostras.

Com base nas concentrações médias de carotenóides e flavonóides na polpa de pitanga (base seca) e seus teores nas microcápsulas (base seca) de MD, AM e GA foi calculado o percentual de retenção (%).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Morfologia e distribuição do tamanho das microcápsulas.

As micrografias apresentadas na Figura 1 demonstram que a polpa de pitanga junto aos materiais de parede utilizados (maltodextrina, amido modificado e goma arábica) formou microcápsulas.

As microcápsulas de maltodextrina apresentaram morfologia característica com paredes contínuas e superfícies externas lisa em formato esférico e pouca fragmentação. Dentre os materiais estudados, o amido modificado foi o material que mais favoreceu a agregação das microcápsulas, com predominância de microcápsulas com superfície rugosa, o que favorece a deposição dos carotenóides da pitanga nos interstícios e, portanto, maior exposição à ação do oxigênio e a luz. As microcápsulas produzidas com goma arábica apresentaram paredes íntegras tendo formato esférico com concavidades e superfície externa arredondadas, com tendência de formação de agregados de microcápsulas menores em torno das de maior diâmetro.

A distribuição e o tamanho das microcápsulas são apresentados na Figura 2. Para os três materiais de parede utilizados na microencapsulação por *spray drying* observa-se uma distribuição bimodal com dois picos distintos. No primeiro pico, as microcápsulas apresentam diâmetros entre 0,6-1,1 μ m equivalente a menos de 3% do total. No segundo pico o diâmetro das microcápsulas variaram entre 2-100 μ m e correspondeu a mais de 97% do total de partículas. Estes resultados demonstram que independente do material de parede utilizado, a tecnologia de microencapsulação da polpa de pitanga por *spray drying* apresentou uma boa homogeneidade morfológica nas partículas formadas.

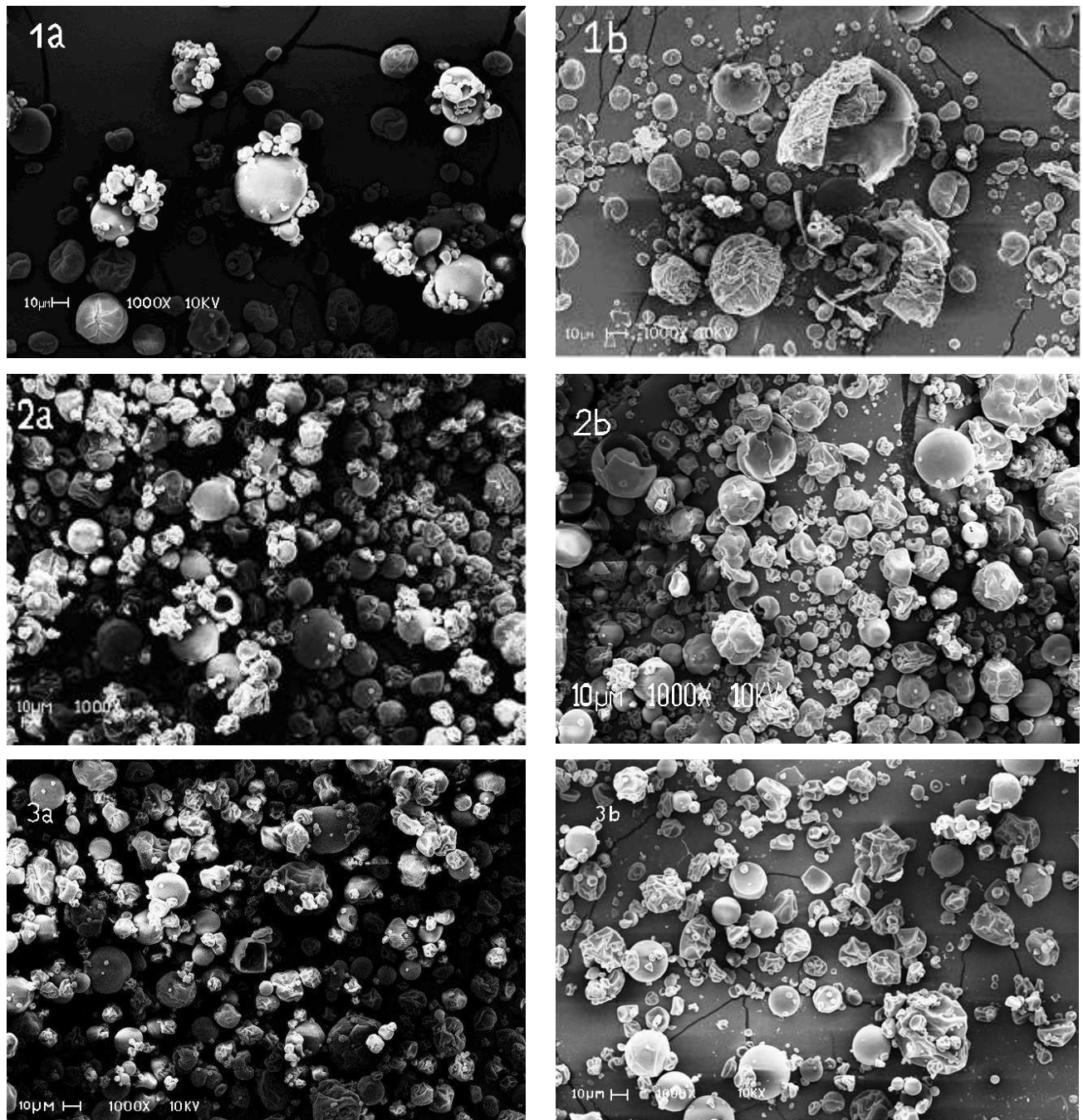


Figura 1. Micrografias obtidas em microscópio eletrônico de varredura de microcápsulas de polpa de pitanga obtidas por *spray drying* a 150°C, com 25% de polpa de pitanga e 75% de maltodextrina (1), amido modificado (2) e goma arábica (3) em fundo escuro (a) e claro (b).

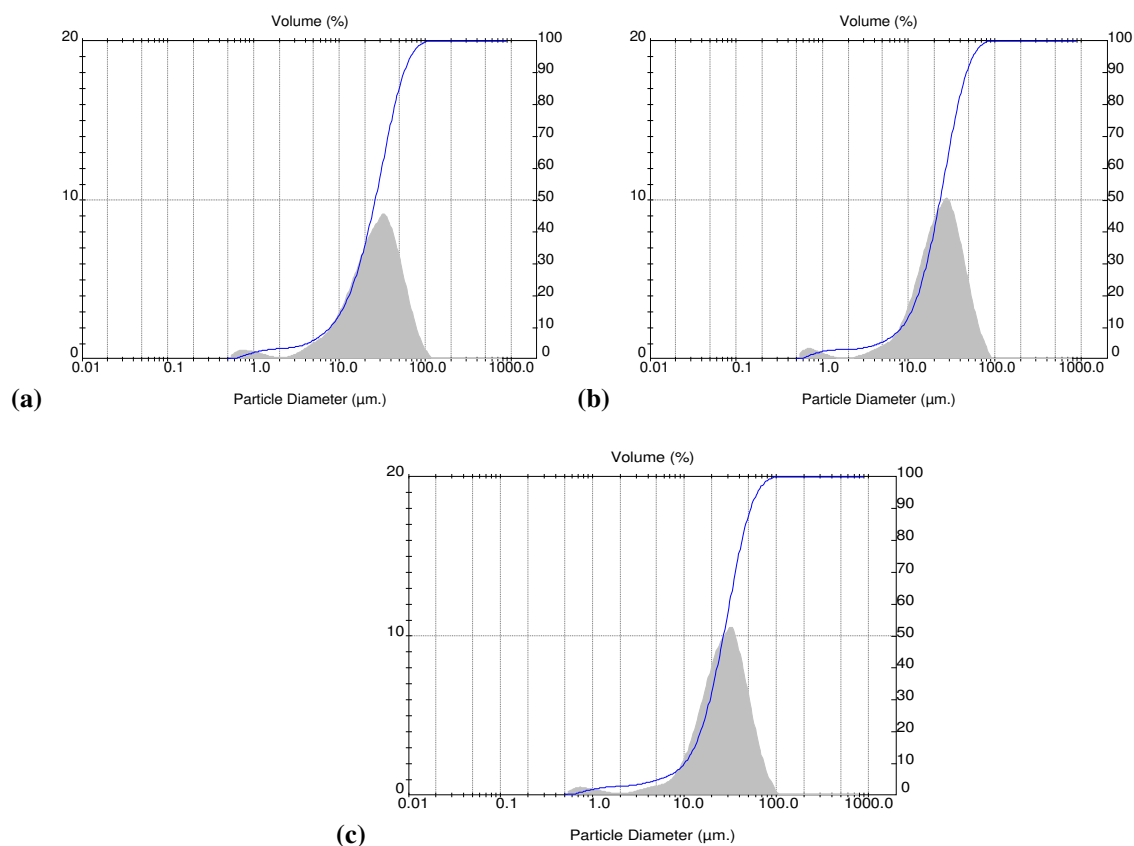


Figura 2. Distribuição e o tamanho das microcápsulas de polpa de pitanga com maltodextrina (a), amido modificado (b) e goma arábica (c).

3.2. Otimização da microencapsulação por *spray drying*.

Na polpa de pitanga *in natura*, as quantidades iniciais de licopeno, β -caroteno, β -criptoxantina e luteína foram de $74 \pm 2\mu\text{g/g}$, $12 \pm 0\mu\text{g/g}$, $44 \pm 1\mu\text{g/g}$ e $4,3 \pm 0\mu\text{g/g}$, respectivamente. Para miricetina, quercetina e kaempferol, as quantidades iniciais foram de $44 \pm 0\mu\text{g/g}$, $69 \pm 1\mu\text{g/g}$ e $4,2 \pm 0\mu\text{g/g}$, respectivamente.

As concentrações dos carotenóides da polpa de pitanga nas superfícies externas e em toda microcápsula (TC) confeccionadas com maltodextrina, amido modificado e em goma arábica como materiais de parede e utilizando o DCCR para avaliar simultaneamente os efeitos da

temperatura de entrada e da relação polpa:material parede são apresentadas na Tabela 2. O licopeno e o β -caroteno da polpa de pitanga microencapsulada com maltodextrina e com amido modificado apresentaram as faixas ótimas de concentrações no intervalo de temperatura de entrada no *spray dryer* entre 150 e 175°C e num percentual de polpa em torno de 20%. Nas microcápsulas de goma arábica, as concentrações de licopeno e β -caroteno também foram maiores na proporção de 20% de polpa, mas a 150°C, e o licopeno foi menos susceptível à elevação da temperatura no *spray dryer* que o β -caroteno.

Quanto às xantofilas β -criptoxantina e luteína, as maiores concentrações foram obtidas também a 20% de polpa e 150°C, com exceção da β -criptoxantina que teve suas maiores concentrações na temperatura de 175°C nas microcápsulas de amido modificado.

Os coeficientes de regressão e os níveis de significância dos resultados das retenções de carotenóides (licopeno, β -caroteno, β -criptoxantina e luteína) e flavonóides (miricetina, quecetina e kaempferol) nas microcápsulas de maltodextrina, amido modificado e goma arábica são apresentados na Tabela 3 e serviram de base na elaboração dos modelos matemáticos em função das variáveis estudadas. Os coeficientes de determinação (R^2) e os F calculados (Tabela 4) tiveram um bom ajuste aos modelos obtidos para as respostas das retenções de carotenóides e flavonóides da polpa de pitanga microencapsulada em maltodextrina e amido modificado. Para a goma arábica os R^2 calculados foram mais baixos (0,63 - 0,81), mas em níveis aceitáveis. Todos os F calculados foram maiores que os valores tabelados. Estes resultados garantem que as superfícies de respostas geradas e apresentadas nas Figuras 3 e 4 descrevem as condições das experimentais na microencapsulação da polpa de pitanga.

Tabela 2. Teores dos carotenóides nas microencapsulas (total e externo) de pitanga em diferentes materiais de parede.

DCCR		Concentração (µg/g matéria seca) ^a							
Temperatura de Entrada (°C)	Polpa:parede	Licopeno		β-Caroteno		β-Criptoxantina		Luteína	
		Total	Externo	Total	Externo	Total	Externo	Total	Externo
Maltodextrina									
150	20:80	257 ± 10	30 ± 0	34 ± 1	4,7 ± 0,1	175 ± 5	21 ± 0	17 ± 0	1,7 ± 0,0
157	10:90	151 ± 7	9,7 ± 0	34 ± 1	3,2 ± 0,0	141 ± 3	9,6 ± 0,3	14 ± 0	1,1 ± 0,0
157	30:70	188 ± 5	28 ± 0	28 ± 1	6,0 ± 0,1	142 ± 5	26 ± 0	13 ± 0	1,3 ± 0,0
175	5,9:94,1	209 ± 3	7,7 ± 0	20 ± 0	0,0 ± 0,0	107 ± 3	4,8 ± 0,2	10 ± 0	0,0 ± 0,0
175	20:80	241 ± 8	28 ± 1	32 ± 1	4,5 ± 0,1	155 ± 4	19 ± 0	14 ± 0	1,4 ± 0,0
175	20:80	231 ± 9	28 ± 1	32 ± 1	4,6 ± 0,1	158 ± 3	19 ± 0	14 ± 0	1,4 ± 0,0
175	20:80	239 ± 5	27 ± 1	33 ± 1	4,5 ± 0,1	155 ± 3	19 ± 0	14 ± 0	1,5 ± 0,0
175	34,1:65,9	162 ± 6	27 ± 0	27 ± 0	7,5 ± 0,2	117 ± 3	36 ± 0	12 ± 0	1,6 ± 0,0
193	10:90	134 ± 5	5,9 ± 0	27 ± 1	2,4 ± 0,1	133 ± 3	8,5 ± 0,1	13 ± 0	0,9 ± 0,0
193	30:70	122 ± 6	17 ± 1	26 ± 0	5,3 ± 0,3	113 ± 5	20 ± 0	11 ± 0	1,1 ± 0,0
200	20:80	122 ± 3	13 ± 0	30 ± 1	3,9 ± 0,1	147 ± 4	18 ± 0	13 ± 0	1,3 ± 0,0
Amido Modificado									
150	20:80	278 ± 9	22 ± 0	36 ± 0	6,1 ± 0,1	189 ± 2	24 ± 1	16 ± 0	2,1 ± 0,1
157	10:90	176 ± 10	9,8 ± 0	26 ± 1	2 ± 0,0	123 ± 3	8,3 ± 0,1	11 ± 1	0,3 ± 0,0
157	30:70	192 ± 6	19 ± 0,	27 ± 0	5,6 ± 0,1	154 ± 5	26 ± 0	12 ± 0	1,5 ± 0,0
175	5,9:94,1	116 ± 4	3,7 ± 0	13 ± 0	0,2 ± 0,0	67 ± 1	1,9 ± 0	4 ± 0	0,0 ± 0,0
175	20:80	237 ± 6	17 ± 0	33 ± 0	6,1 ± 0,2	176 ± 0	17 ± 0	12 ± 0	1,6 ± 0,0
175	20:80	239 ± 9	18 ± 0	33 ± 0	6 ± 0,1	174 ± 3	17 ± 1	12 ± 0	1,7 ± 0,1
175	20:80	234 ± 7	18 ± 0	34 ± 0	6,1 ± 0,1	174 ± 4	17 ± 1	12 ± 0	1,7 ± 0,0
175	34,1:65,9	170 ± 7	21 ± 0	27 ± 0	6 ± 0,2	152 ± 2	27 ± 1	15 ± 0	2,5 ± 0,0
193	10:90	155 ± 5	7,7 ± 0	22 ± 0	1,3 ± 0,1	118 ± 2	6,8 ± 0	8,1 ± 0	0,2 ± 0,0
193	30:70	97 ± 1,2	9,2 ± 0	19 ± 0	3,8 ± 0,0	126 ± 5	21 ± 0	10 ± 0	0,9 ± 0,0
200	20:80	162 ± 8	12 ± 0	11 ± 0	1,8 ± 0,1	97 ± 3	8,9 ± 0,1	9,5 ± 0	1,3 ± 0,0
Goma arábica									
150	20:80	245 ± 4	23 ± 0	38 ± 0	4,9 ± 0,1	163 ± 1	22 ± 0	16 ± 0	1,6 ± 0,0
157	10:90	221 ± 11	8,6 ± 0	26 ± 0	1,3 ± 0,1	118 ± 1	9,4 ± 0,3	13 ± 0	0,8 ± 0,0
157	30:70	227 ± 4	22 ± 1	28 ± 0	4 ± 0,1	146 ± 1	25 ± 1	14 ± 0	1,7 ± 0,0
175	5,9:94,1	131 ± 1	1,5 ± 0	21 ± 0	0,8 ± 0,0	117 ± 1	4,8 ± 0,0	1,8 ± 0,0	0,3 ± 0,0
175	20:80	229 ± 3	25 ± 2	26 ± 0	4 ± 0,1	151 ± 5	20 ± 0	16 ± 0	1,4 ± 0,0
175	20:80	232 ± 6	25 ± 1	26 ± 0	3,8 ± 0,1	145 ± 7	20 ± 0	15 ± 0	1,4 ± 0,0
175	20:80	228 ± 7	25 ± 1	26 ± 0	4,1 ± 0,0	145 ± 5	20 ± 0	15 ± 0	1,4 ± 0,0
175	34,1:65,9	213 ± 5	33 ± 1	26 ± 0	7,6 ± 0,1	139 ± 2	32 ± 0	13 ± 0	1,9 ± 0,0
193	10:90	205 ± 13	7,9 ± 0	22 ± 0	1,0 ± 0,0	99 ± 0	7,8 ± 0	12 ± 0	0,7 ± 0,0
193	30:70	204 ± 4	20 ± 0	23 ± 0	3,2 ± 0,0	131 ± 1	22 ± 0	12 ± 0	1,3 ± 0,1
200	20:80	224 ± 1	19 ± 0	26 ± 1	4 ± 0,0	156 ± 5	17 ± 1	15 ± 0	1,4 ± 0,0

^a média e desvio padrão de análises em triplicatas

Tabela 3 – Estimativa dos coeficientes de regressão do modelo polinomial quadrático e significância (p-valor) para as respostas da microencapsulação de polpa de pitanga em maltodextrina, amido modificado e goma arábica.

	Licopeno		β-caroteno		β-criptoxantina		Luteína		Miricetina		Quercetina		Kaempferol	
	Coefficiente	p-valor	Coefficiente	p-valor	Coefficiente	p-valor	Coefficiente	p-valor	Coefficiente	p-valor	Coefficiente	p-valor	Coefficiente	p-valor
Maltodextrina														
β_0	81,33	<0,0001	67,67	<0,0001	88,67	<0,0001	82,67	<0,0001	35,67	0,0017	70,33	0,0024	20,00	0,0015
β_1	-11,76	0,0329	-3,66	0,1522	-5,28	0,0607	6,72	0,0173	-9,79	0,2203	-10,89	0,2154	-8,31	0,0081
β_{11}	-11,48	0,0618	0,29	0,9145	0,85	0,5625	1,92	0,4414	7,38	0,3687	2,46	0,7987	-5,26	0,0736
β_2	-1,71	0,6896	1,08	0,6404	-0,49	0,6891	0,23	0,9088	20,92	0,2072	24,05	0,0258	5,52	0,3699
β_{22}	-11,98	0,05436	-8,21	0,0246	-13,15	0,0021	9,58	0,0087	13,03	0,1416	1,21	0,8999	-2,68	0,3017
β_{12}	-4,25	0,4887	3,00	0,3733	-3,25	0,1039	-0,5	0,8616	-1,50	0,8725	2,25	0,8441	-1,50	0,6110
Amido Modificado														
β_0	81,33	0,0002	70,67	0,0001	99,00	<0,0001	70,00	0,0002	33,67	0,0005	55,00	0,0004	11,67	0,0001
β_1	-12,20	0,0138	-12,31	0,2339	-6,62	0,1113	-10,14	0,0769	-7,26	0,0350	-13,92	0,0171	-4,19	0,0014
β_{11}	-5,04	0,2532	-9,46	0,9216	-13,36	0,0209	1,44	0,8019	2,29	0,4807	-0,63	0,8999	-0,08	0,9198
β_2	1,48	0,6701	4,50	0,2919	12,36	0,0211	14,17	0,0268	17,53	0,0010	17,83	0,0065	5,01	0,0006
β_{22}	-18,29	0,0054	-13,21	0,0337	-16,06	0,0109	-7,81	0,2100	1,29	0,6856	-5,63	0,2874	-0,58	0,4920
β_{12}	-6,25	0,2358	-2,25	0,6945	-3,25	0,5322	1,50	0,8255	-2,00	0,6001	-6,00	0,3341	1,50	0,1697
Goma Arábica														
β_0	79,00	<0,0001	55,00	0,0001	84,00	<0,0001	89,33	0,0014	47,33	0,0039	70,67	0,0046	17,00	0,0265
β_1	-2,86	0,2780	-3,94	0,0158	-3,08	0,4631	-2,71	0,6297	-10,69	0,1203	-20,02	0,0738	-8,56	0,0508
β_{11}	1,75	0,5594	21,41	0,0955	-0,69	0,8875	3,40	0,6118	1,90	0,7916	2,17	0,8456	1,06	0,8004
β_2	5,07	0,0835	15,14	0,2438	10,03	0,0491	11,74	0,0766	16,79	0,0323	28076	0,0229	11,32	0,0196
β_{22}	-9,00	0,0236	3,90	0,1447	-4,69	0,3567	-21,85	0,0176	1,65	0,8184	5,67	0,6146	6,06	0,1886
β_{12}	-0,75	0,8306	12,65	0,7961	0,75	0,8966	-2,50	0,7511	-5,50	0,9263	-3,50	0,7915	-2,75	0,5865

Tabela 4 – Equações que representam a resposta em função da temperatura de entrada no *spray dryer* (X_1) e da quantidade de polpa de pitanga (X_2) nas microcápsulas de maltodextrina, amido modificado e goma arábica.

Resposta	Equação Y = (média) (valores X_1 e X_2 codificados)	R ²	F _{CAL}	F _{TAB} (α , V _R , V _r)
Maltodextrina				
Licopeno	$Y = 81,33 - 11,76 X_1$	0,90	24,05	5,05
β -caroteno	$Y = 67,67 - 8,21 X_2^2$	0,70	14,16	5,05
β -criptoxantina	$Y = 88,67 - 5,28 X_1 - 13,5 X_2^2$	0,87	116,29	5,05
Luteína	$Y = 82,67 - 6,74 X_1 - 9,58 X_2^2$	0,77	30,45	5,05
Miricetina	$Y = 35,66 + 41,84 X_2$	0,80	17,11	5,05
Quercetina	$Y = 70,33 + 24,05 X_2$	0,70	11,95	5,05
Kaempferol	$Y = 20,00 - 8,31 X_1 + 5,52 X_2$	0,89	32,73	5,05
Amido modificado				
Licopeno	$Y = 81,33 - 12,20 X_1 - 18,29 X_2^2$	0,92	39,44	5,05
β -caroteno	$Y = 70,67 - 12,32 X_1 - 13,21 X_2^2$	0,91	24,70	5,05
β -criptoxantina	$Y = 99,00 - 13,56 X_1^2 + 11,36 X_2 - 16,06 X_2^2$	0,90	41,72	5,05
Luteína	$Y = 70,00 + 14,17 X_2$	0,75	16,76	5,05
Miricetina	$Y = 33,67 - 7,26 X_1 + 17,53 X_2$	0,92	57,40	5,05
Quercetina	$Y = 55,00 - 13,92 X_1 + 17,83 X_2$	0,87	35,04	5,05
Kaempferol	$Y = 11,67 - 4,19 X_1 + 5,01 X_2$	0,95	100,63	5,05
Goma Arábica				
Licopeno	$Y = 79,00 - 9,00 X_2^2$	0,70	16,90	5,05
β -caroteno	$Y = 55,00 - 6,97 X_1$	0,73	21,85	5,05
β -criptoxantina	$Y = 84,00 + 10,03 X_2$	0,63	8,38	5,05
Luteína	$Y = 89,33 - 21,85 X_2^2$	0,71	17,74	5,05
Miricetina	$Y = 47,33 + 16,79 X_2$	0,72	12,73	5,05
Quercetina	$Y = 70,67 + 28,76 X_2$	0,76	16,00	5,05
Kaempferol	$Y = 16,99 + 11,32 X_2$	0,81	14,08	5,05

R² - coeficiente de determinação; F_{CAL} = (quadrado médio da regressão/quadrado médio de resíduo); α - nível de significância (5%); V_R - graus de liberdade da regressão; V_r - graus de liberdade do resíduo.

As eficiências das microencapsulações por *spray drying* dos carotenóides de polpa de pitanga são apresentados na Tabela 5. Para todos os carotenóides estudados, as maiores eficiências foram obtidas nas temperaturas de entrada de 150 e 175°C e na proporção de 20% de polpa de pitanga. Não houve uma nítida diferença entre as eficiências dos três materiais de parede para os carotenóides.

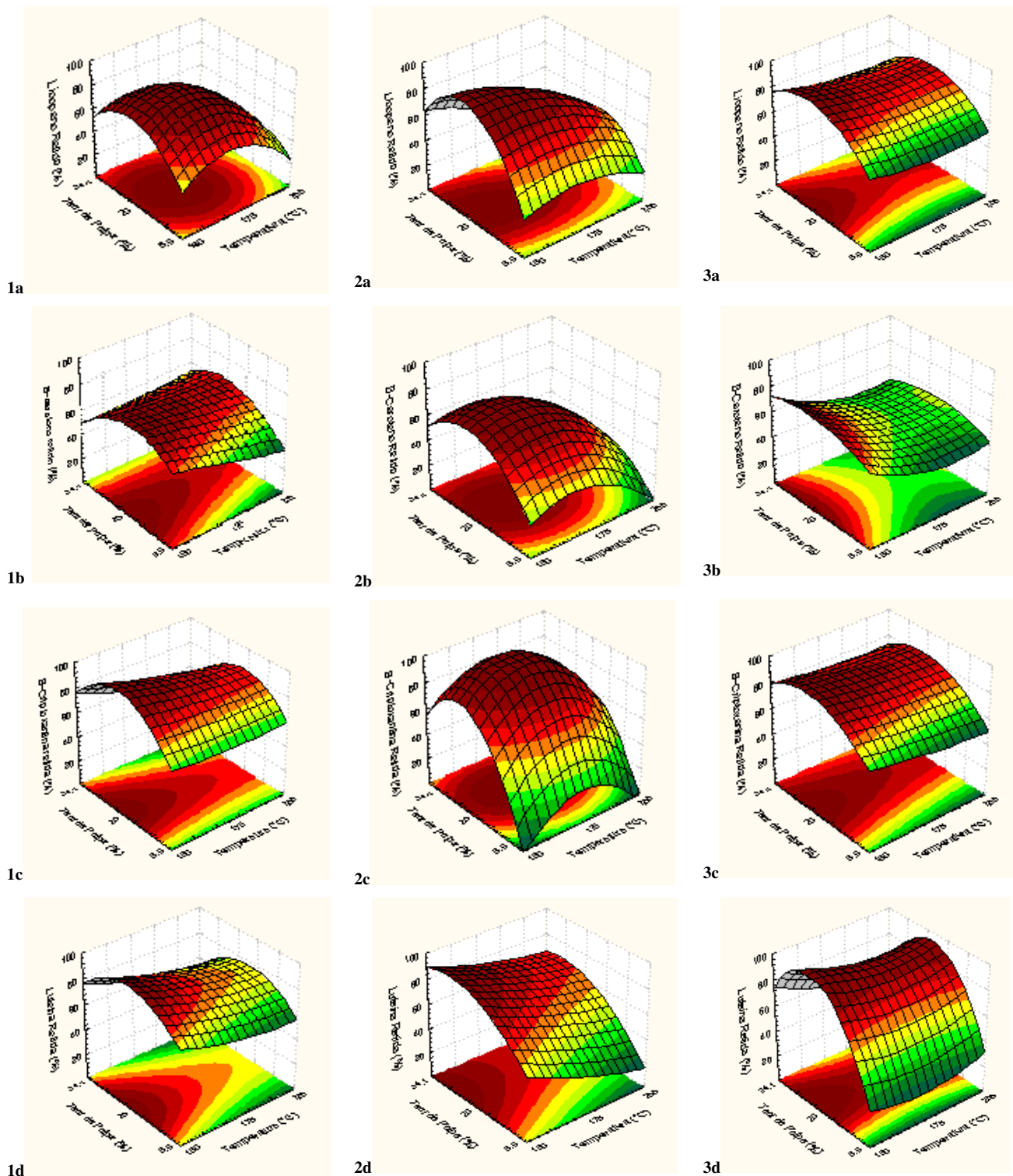


Figura 3. Superfícies de resposta na retenção de licopeno total (a), β -caroteno total (b), β -criptoxantina total (c) e luteína total (d) de polpa de pitanga microencapsulada por *spray drying*, usando maltodextrina (1), amido modificado - Capsul[®] (2) e goma arábica (3).

Tabela 5. Eficiência da microencapsulação por *spray drying* dos carotenóides da polpa de pitanga em maltodextrina, amido modificado e goma arábica.

Materiais de parede	Polpa:parede	Eficiência da microencapsulação (%)			
		Licopeno	β -Caroteno	β -Criptoxantina	Luteína
Temperatura de Entrada (°C)					
Maltodextrina					
150	20:80	88	71	99	99
157	10:90	52	72	80	83
157	30:70	65	59	81	76
175	5,9:94,1	72	42	61	59
175	20:80	83	67	88	81
175	20:80	79	67	90	82
175	20:80	82	69	88	85
175	34,1:65,9	56	58	66	69
193	10:90	46	57	76	74
193	30:70	42	56	64	65
200	20:80	42	63	84	75
Amido modificado					
150	20:80	96	76	79	95
157	10:90	61	55	70	64
157	30:70	66	57	88	71
175	5,9:94,1	40	28	38	24
175	20:80	81	71	99	70
175	20:80	82	70	99	70
175	20:80	81	71	99	70
175	34,1:65,9	59	57	86	90
193	10:90	53	47	67	48
193	30:70	33	40	72	61
200	20:80	56	24	55	56
Goma arábica					
150	20:80	84	81	93	95
157	10:90	76	55	67	75
157	30:70	78	59	83	81
175	5,9:94,1	45	45	67	10
175	20:80	79	55	86	92
175	20:80	80	55	83	88
175	20:80	78	55	83	88
175	34,1:65,9	73	56	79	75
193	10:90	71	47	56	72
193	30:70	70	48	75	68
200	20:80	77	55	89	91

Tabela 6. Teores dos flavonóides retidos da polpa de pitanga microencapsulada em diferentes materiais de parede.

Materiais de Parede		Concentração ($\mu\text{g/g}$ matéria seca) ^a		
Temperatura de Entrada ($^{\circ}\text{C}$)	Polpa:parede	Miricetina	Quercetina	Kaempferol
Maltodextrina				
150	20:80	59 \pm 1	90 \pm 1	2 \pm 0
157	10:90	57 \pm 2	78 \pm 4	1,8 \pm 0
157	30:70	64 \pm 2	89 \pm 10	2,4 \pm 0,1
175	5,9:94,1	9,6 \pm 0,5	12 \pm 0	0,2 \pm 0
175	20:80	37 \pm 1	70 \pm 3	2 \pm 0
175	20:80	34 \pm 1	69 \pm 3	2 \pm 0
175	20:80	36 \pm 2	72 \pm 2	2 \pm 0
175	34,1:65,9	74 \pm 0	112 \pm 0	2,9 \pm 0,1
193	10:90	51 \pm 2	66 \pm 4	1,4 \pm 0,0
193	30:70	52 \pm 2	86 \pm 4	1,4 \pm 0,0
200	20:80	22 \pm 1	39 \pm 2	0,7 \pm 0,0
Amido Modificado				
150	20:80	43 \pm 0	72 \pm 6	1,6 \pm 0,0
157	10:90	34 \pm 1	49 \pm 1	1,4 \pm 0,2
157	30:70	65 \pm 2	80 \pm 2	1,9 \pm 0,3
175	5,9:94,1	1,7 \pm 0	3,6 \pm 0	0,1 \pm 0,0
175	20:80	34 \pm 0	55 \pm 1	1,2 \pm 0,0
175	20:80	34 \pm 0	57 \pm 2	1,1 \pm 0,0
175	20:80	33 \pm 1	53 \pm 2	1,2 \pm 0,0
175	34,1:65,9	63 \pm 2	78 \pm 0	1,8 \pm 0,1
193	10:90	21 \pm 1	35 \pm 2	1,2 \pm 0,1
193	30:70	44 \pm 1	42 \pm 0	1,3 \pm 0,2
200	20:80	26 \pm 1	30 \pm 0	0,5 \pm 0,1
Goma arábica				
150	20:80	62 \pm 1	93 \pm 3	2,7 \pm 0,1
157	10:90	55 \pm 1	94 \pm 0	2,9 \pm 0,0
157	30:70	78 \pm 3	122 \pm 4	4,3 \pm 0,1
175	5,9:94,1	4,6 \pm 1,1	7,6 \pm 0	0,2 \pm 0,0
175	20:80	47 \pm 1	71 \pm 0	1,7 \pm 0,0
175	20:80	48 \pm 0	71 \pm 0	1,7 \pm 0,0
175	20:80	47 \pm 0	70 \pm 0	1,7 \pm 0,0
175	34,1:65,9	83 \pm 0	141 \pm 1	5,4 \pm 0,1
193	10:90	48 \pm 0	57 \pm 1	1,3 \pm 0,0
193	30:70	49 \pm 0	71 \pm 1	1,6 \pm 0,0
200	20:80	27 \pm 0	42 \pm 1	0,9 \pm 0,0

^a média e desvio padrão de análises em triplicatas.

Para os flavonóides, a temperatura de secagem de 150°C e a proporção de polpa de pitanga na faixa de 25-30% promoveram as maiores concentrações de miricetina, quercetina e kaempferol, nas microcápsulas confeccionadas com goma arábica, seguida pela maltodextrina e pelo amido modificado (Tabela 6).

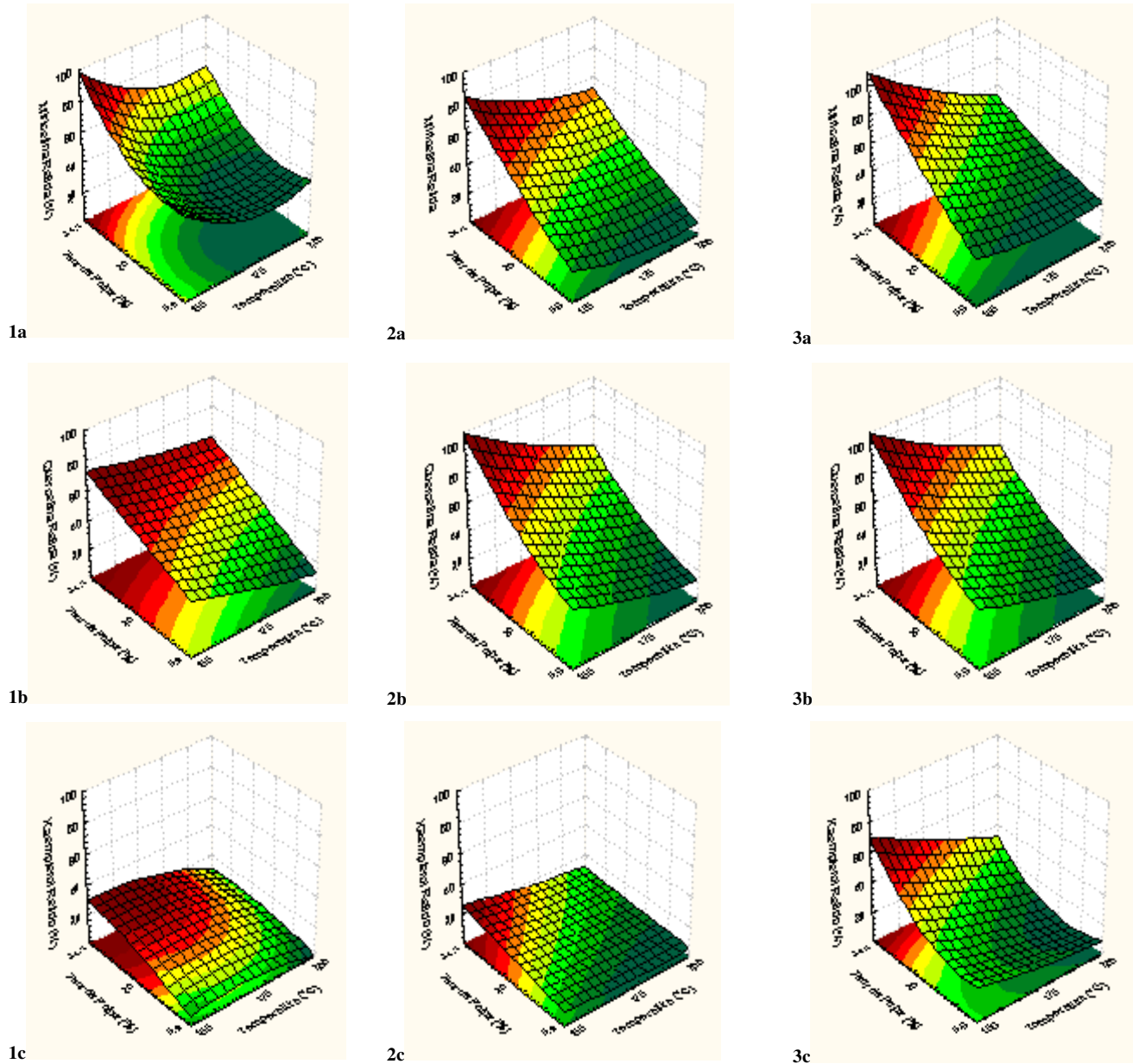


Figura 4. Superfícies de resposta da retenção de miricetina (a), quercetina (b) e kaempferol (c) de polpa de pitanga microencapsulada por *spray drying*, usando maltodextrina (1), amido modificado - Capsul[®] (2) e goma arábica (3).

As superfícies de respostas apresentadas na Figura 4 confirmam esta tendência das maiores retenções de flavonóides ocorrerem nos ensaios com teores de polpa acima de 25% e na temperatura de entrada no *spray drying* de 150°C.

4. CONCLUSÃO

Com base na retenção de carotenóides e flavonóides nas microcápsulas de pitanga, a melhor temperatura de entrada no *spray dryer* foi de 150°C e proporção de polpa de 25%. O material de parede de melhor desempenho para ambas as classes de compostos foi a goma arábica.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHN, J-H.; KIM, Y-P.; LEE, Y-M.; SEO, E-M.; LEE, K-W.; KIM, H-S. Optimization of microencapsulation of seed oil by response surface methodology. **Food Chemistry**, 107, 98-105, 2008.
- AZEVEDO-MELEIRO, C. H.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Confirmation of the identity of tropical fruits by HPLC-DAD and HPLC-MS. **Journal of Food Composition and Analysis**, 17, 385-396, 2004.
- BEATUS, Y.; ROSEMBERG, M. R.; KOPELMAN, I. J. Spray-drying microencapsulation of paprika oleoresin. **Lebensmittel-Wissenschaft and Technologie**, 18, 28-34, 1985.
- DESAI, K. G. H.; PARK, H. J. Recent developments in microencapsulation of food ingredients. **Drying Technology**, 23, 1361-1394, 2005.

- DIOSADY, L. L.; ALBERTI, J. O.; VENKATESH MANNAR; M. G. Microencapsulation for iodine stability in salt fortified with ferrous fumarate and potassium iodide. **Food Research International**, 35, 635-642, 2002.
- D'ODORICO, A.; MARTINES, D.; KIECHL, S.; EGGER, G.; OBERHOLLENZER, F.; BONVICINI, P.; STURNIOLO, G. C.; NACCARATO, R.; WILLEIT, J. High plasma levels of α - and β -carotene are associated with a lower risk of atherosclerosis, results from the Bruneck study. **Atherosclerosis**, 153, 231-239, 2000.
- DRUSCH, S. Sugar beet pectin: a novel emulsifying wall component for microencapsulation of lipophilic food ingredients by spray-drying. **Food Hydrocolloids**, 21, 1223-1228, 2007.
- FREYRE, M. R.; BAIGORRIA, C. M.; ROZYCKI, V. R.; BERNARDI, C. M.; CHARPENTIER, M. Vegetales silvestres sub explotados del Chaco argentino y su potencial como recurso alimenticio. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, 50, 394-399, 2000.
- GHARSALLAOUI, A.; ROUDAUT, G.; CHAMBIN, O.; VOILLEY, A.; SAUREL, R. Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. **Food Research International**, 40, 1107-1121, 2007.
- GOUIN, S. Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. **Trends in Food Science & Technology**, 15, 330-347, 2004.
- HERTOG, M. G. L.; KROMHOUT, D.; ARAVANIS, C.; BLACKBURN, H.; BUZINA, R.; FIDANZA, F.; GIAMPAOLI, S.; JANSEN, A.; MENOTTI, A.; NEDELJKOVIC, S.; PEKKARINEN, M.; SIMIC, B. S.; TOSHIMA, H.; FESKENS, E. J. M.; HOLLMAN, P. C. H.; KARAN, M. B. Flavonoid intake and long-term risk of coronary heart disease and cancer in the seven countries study. **Archives of Internal Medicine**, 155, 381-386. 1995.

- HOFFMANN-RIBANI, R.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Otimização de método para determinação de flavonóis e flavonas em frutas por cromatografia líquida de alta eficiência utilizando delineamento estatístico e análise de superfície de resposta. **Química Nova**, 31, 1378-1384, 2008.
- HOFFMANN-RIBANI, R.; HUBER, L. S.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Flavonols in fresh and processed Brazilian fruits. **Journal of Food Composition and Analysis**, 22, 263-268, 2009.
- HUNG, R. J.; ZHANG, Z-F.; RAO, J. Y.; PANTUCK, A.; REUTER, V. E. Protective effects of plasma carotenoids in the risk of bladder cancer. **The Journal of Urology**, 176, 1192-1197, 2006.
- KIM, M. K.; CHOI, K. Y.; LEE, W. C.; PARK, J. H. Y.; SUNG, M-K. KIM, J-S.; PARK, Y. G.; MENG, K-H.; KIM, J.; LEE-KIM, Y. C. Low serum β -carotene is associated with the incidence of colorectal adenoma. **Nutrition Research**, 27, 127-132, 2007.
- KIMURA, M.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. A scheme for obtaining standards and HPLC quantification of leafy vegetable carotenoids. **Food Chemistry**, 78, 389-398, 2002.
- KNEKT, P.; JARVINEN, R.; SEPPANEN, R.; HELIOVAARA, M.; TEPPPO, L.; PUKKALA, R.; AROMAA, A. Dietary flavonoids and the risk of lung cancer and other malignant neoplasms. **American Journal of Epidemiology**, 146, 223-230, 1997.
- KRINSKY, N. I. Carotenoids as antioxidants. **Nutrition**, 17, 815-817, 2001.
- KRINSKY, N.; YEUM, K-J. Carotenoid-radical interactions. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, 305, 754-760, 2003.

- KSHIRSAGAR, A. C.; SINGHAL, R. S. Preparation of hydroxypropyl corn and amaranth starch hydrolyzate and its evaluation as wall material in microencapsulation. **Food Chemistry**, 108, 958-964, 2008.
- LIMA, V. L. A. G.; MELO, E. A.; LIMA, D. E. S. Fenólicos e carotenóides totais em pitanga. **Scientia Agrícola**, 59, 447-450, 2002.
- LOKSUWAN, J. Characteristics of microencapsulated β -carotene formed by spray drying with modified tapioca starch, native tapioca starch and maltodextrin. **Food Hydrocolloids**, 21, 928-935, 2007.
- NEUHOUSER, M. L. Dietary flavonoids and cancer risk: evidence from human population studies. **Nutrition and Cancer**, 50, 1-7, 2004.
- O'BRIEN, C. M.; CHAPMAN, D.; NEVILLE, D. P.; KEOGH, M. K.; ARENDT, E. K. Effect of varying the microencapsulation process on the functionality of hydrogenated vegetable fat in shortdough biscuits. **Food Research International**, 36, 215-221, 2003.
- PAULETTI, M. S.; AMESTOY, P. Butter microencapsulation as affected by composition of wall material and fat. **Journal of Food Science**, 64, 279-282, 1999.
- POLYAKOV, N. E.; LESHINA, T. V.; KONOVALOVA, T. A.; KISPERS, L. D. Carotenoids as scavengers of free radicals in a fenton reaction: antioxidants or pro-oxidants? **Free Radical Biology and Medicine**, 31, 398-404, 2001.
- PORCU, O. M.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **Fatores que influenciam na composição de carotenóides em goiaba, acerola, pitanga e seus produtos processados**. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas. 2004.

- PRIOR, R. L.; CAO, G. Antioxidant phytochemicals in fruits and vegetables. Diet and health implication. **Horticulture Science**, 35, 588-592. 2000.
- RICHER, S.; STILES, W.; STATKUTE, L.; PULIDO, J.; FRANKOWSKI, J.; RUDY, D.; PEI, K.; TSIPURSKY, M.; NYLAND, J. Double-masked, placebo-controlled, randomized trial of lutein and antioxidant supplementation in the intervention of atrophic age-related macular degeneration: the veterans last study (lutein antioxidant supplementation trial). **Optometry**, 75, 216-230, 2004.
- SANTOS, A. F.; SILVA, S. M.; MENDONÇA, R. M. N.; FILGUEIRAS, H. A. C. Armazenamento de pitangas sob atmosfera modificada e refrigeração: II – qualidade e conservação pós-colheita. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 28, 42-45, 2006.
- SILVA, S. M. Pitanga. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 28, 1, 2006.
- SOOTTITANTAWAT, A.; BIGEARD, F.; YOSHII, H.; FURUTA, T.; OHKAWARA, M.; LINKO, P. Influence of emulsion and powder size on the stability of encapsulated D-limonene by spray drying. **Innovative Food Science and Emerging Tecnologies**, 6, 107-114. 2005.
- TERAO, J.; PISKULA, M. K. Flavonoids and membrane lipid perodation inhibition. **Nutrition**, 15, 790-791, 1999.
- WAGNER, L. A.; WARTHESEN, J. J. Stability of spray-dried encapsulated carrot carotenes. **Journal of Food Science**, 60, 1048-1053. 1995.
- YOCHUM, L.; KUSHI, L. H.; MEYER, K.; FOLSOM, A. R. Dietary flavonoid intake and risk of cardiovascular disease in postmenopausal women. **American Journal of Epidemiology**, 149, 943-949, 1999.

CAPÍTULO 5

Estabilidade dos carotenóides e flavonóides durante a estocagem da polpa de pitanga (*Eugenia uniflora* L.) microencapsulada por *spray drying*

JOSÉ EMILSON MACÊDO FERREIRA

CARLOS RAIMUNDO F. GROSSO

DELIA B. RODRIGUEZ-AMAYA

Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Departamento de
Ciência de Alimentos, Campinas, SP, Brasil.

RESUMO

A microencapsulação é realizada para proteger compostos susceptíveis à degradação como os bioativos carotenóides e flavonóides. O presente trabalho foi realizado para verificar tal proteção em polpa de pitanga microencapsulada com maltodextrina, amido modificado e goma arábica. A goma arábica promoveu a maior estabilidade dos carotenóides e flavonóides durante a estocagem na presença de luz (345lux). A degradação dos carotenóides na polpa microencapsulada seguiu uma cinética de primeira ordem e para os flavonóides de ordem zero. Durante a secagem por *spray drying*, as concentrações dos carotenóides e flavonóides reduziram, em relação à polpa liofilizada. Entretanto, a microencapsulação da polpa de pitanga conferiu maior estabilidade a estes compostos durante a estocagem.

Palavras chave: Pitanga, microencapsulação; carotenóides; flavonóides; cinética.

ABSTRACT

Microencapsulation is carried out to protect compounds susceptible to degradation, such as the bioactive carotenoids and flavonoids. The present work was therefore carried out to verify this protection in pitanga pulp microencapsulated with maltodextrin, modified starch and gum Arabic. Gum Arabic promoted greater stability of the studied compounds during storage in the presence of light (345 lux). The degradation of carotenoids in the microencapsulated pulps followed first order kinetic, and for the flavonoids, a zero order kinetic. During the drying, carotenoids and flavonoids concentrations reduced in comparison with the lyophilized pulp. However, pitanga pulp microencapsulation conferred greater stability during storage.

Key words: Pitanga, microencapsulation, carotenoids, flavonoids, kinetics.

1. INTRODUÇÃO

A pitanga (*Eugenia uniflora* L.) é uma fruta brasileira fonte de carotenóides como licopeno, rubixantina, β -criptoxantina, luteína e β -caroteno (LIMA *et al.*, 2002; PORCU e RODRIGUEZ-AMAYA, 2004; AZEVEDO-MELEIRO e RODRIGUEZ-AMAYA, 2004), dos flavonóides miricerina, quercetina e Kaempferol (HOFFMANN-RIBANI e RODRIGUEZ-AMAYA, 2009), vitamina C e fibras (FREYRE *et al.*, 2000).

Os carotenóides são compostos bioativos multifuncionais que conferem cores vermelha, laranja ou amarela em muitas frutas e hortaliças. Além da atividade próvitamínica A de alguns deles, os carotenóides contribuem na redução do risco de doenças crônicas não transmissíveis como certos tipos de câncer, doenças cardiovasculares, degeneração macular e formação de catarata.

Os flavonóides compõem uma ampla classe de compostos de baixo peso molecular encontrados em folhas, sementes, cascas, flores e frutos de plantas. Estes são classificados em: flavonas, flavonóis, flavanóis, flavanonas, isoflavonas e antocianinas. Atuam na redução da ocorrência de doenças cardiovasculares e câncer, principalmente, por atuarem como antioxidantes (RIMM *et al.*, 1996; BRUSSELMANS *et al.*, 2005; WANG *et al.*, 2009).

Devido ao aumento na demanda por alimentos funcionais e produtos alimentícios cada vez mais sofisticados, a microencapsulação vem se tornando uma tecnologia importante na prevenção de perdas por oxidação (DRUSCH e SCHWARZ, 2006). O mecanismo de proteção exercido pelas técnicas de microencapsulação se dá por conta da formação de membranas ou sistemas de paredes que envolvem gotas ou partículas do material microencapsulado ou recheio (SHU *et al.*, 2006).

Esta pesquisa teve por objetivo avaliar a estabilidade dos carotenóides e flavonóides da polpa de pitanga microencapsulada, durante a estocagem em temperatura ambiente e na presença de luz.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Amostras e materiais de parede. A pitanga recém despulpada e embalada foi adquirida no Centro de Abastecimento Alimentar de Pernambuco – CEASA/Recife e transportada via aérea. Os materiais de parede foram a maltodextrina DE 17-19,9 (MD) GLOBE 1820, doada pela Corn Product Brazil, Mogi Guaçu, SP; amido modificado (AM) CAPSUL[®], doado por National Starch Brazil, Trombudo Central, SC; e goma arábica (GA), doada por Colloides Naturels Brazil – Instant Gum BA, São Paulo, SP.

2.2. Reagentes e padrões. Os ácidos fórmico, ascórbico e clorídrico, acetona, éter etílico e éter de petróleo, de grau analítico, foram adquiridos da Labsynth Ltda. (São Paulo, SP). Acetonitrila, metanol e acetato de etila foram de grau HPLC e comprados da Mallinckrodt Baker (Philipsburg, EUA). Todas as fases móveis foram filtradas em filtros de politetrafluoretileno (PTFE) da Millipore (São Paulo, SP), com poros de 0,22µm de diâmetro. Os padrões de miricetina (M), quercetina (Q) e Kaempferol (K) foram adquiridos da Sigma Chemicals Co. (St. Louis, EUA). As soluções estoque dos padrões foram preparadas pela dissolução de cada flavonóide em metanol grau cromatográfico, em concentração de aproximadamente 500 µg/mL e conservados a -18°C, protegidos da luz, com validade de 2 meses, nestas condições. Os padrões de carotenóides foram isolados por cromatografia em coluna aberta, seguindo metodologia descrita por KIMURA e RODRIGUEZ-AMAYA (2002).

2.3. Delineamento experimental. Os resultados foram analisados estatisticamente, utilizando-se o “Software Statistic for Windows”, versão 6.0 da STATSOFT. A análise de variância (ANOVA) com o teste de Fisher (5%).

2.4. Preparação do experimento e secagem em *spray drying*. Com base nas melhores retenções de carotenóides e flavonóides nas otimizações do capítulo 4, optou-se pelas proporções de 25% de polpa de pitanga e 75% de material de parede, com base no peso seco, e temperatura de entrada no *spray dryer* de 150°C. A homogeneização das soluções/dispersões em meio aquoso foi feita com o auxílio de homogeneizador Polytron (PT-2100, Kinematica GA, Luzernerstrasse, Alemanha), a 15.000rpm por 5 minutos e em temperatura ambiente. Durante a secagem por *spray drying* (Lab-Plant, modelo SD-04, Huddersfield, Grã Bretanha) as soluções/dispersões foram mantidas sob agitação contínua (agitador mecânico com barra magnética) a 30°C. A pressão do ar foi de 5 kgf/cm², num fluxo de 13mL/minuto e com bico aspessor de 2mm. A liofilização da polpa de pitanga foi realizada em liofilizador de bancada (modelo LS 3000, Terroni, São Carlos, SP), com o prévio congelamento das amostras e pelo contato direto com a superfície do liofilizador.

2.5. Estudo da estabilidade de carotenóides e flavonóides da polpa de pitanga microencapsulada. As amostras (20g) foram acondicionadas em embalagens comerciais de polietileno transparente com área superficial de 100cm², cuja espessura do filme foi determinada em micrômetro de ponta plana Starret modelo n°.732 x FL-1 (The L. S. Starret Company, Athol, Massachusetts, EUA), com resolução de 0,01mm. A taxa de permeabilidade ao oxigênio foi determinada em equipamento Ox-tran modelo 2/20 (Mocon Inc., Minneapolis, Minnesota, EUA). A percentagem de transmissão de luz especular foi aferida em espectrofotômetro UV-visível de duplo feixe, modelo Lambda (Perkin Elmer Corporation, Oak Brook, Illinois, EUA), na faixa de

300 a 800nm. As embalagens foram distribuídas sobre uma superfície horizontal e expostas à luz artificial (oito lâmpadas fluorescentes de 40 watts) a uma altura média de 1,8m, sendo distribuídas segundo a ordem de sorteio e mantidas em temperatura ambiente ($25 \pm 2^\circ\text{C}$).

Durante o período experimental foram feitas aferições da intensidade de luz artificial incidida sobre a polpa de pitanga liofilizada e nas microcápsulas, utilizando-se luxímetro, modelo TESTO 545, com sensor de fotodiodo de silicone (Testo Co., Lenzkirch, Baden-Wurttemberg, Alemanha) na temperatura de 25°C . Amostras em triplicatas de todos os tratamentos foram colhidas e analisadas em intervalos de dez dias, perfazendo um período experimental de 50 dias. A não deterioração das microcápsulas e da polpa de pitanga liofilizada durante o estudo de estabilidade foi assegurada pelo baixo teor de umidade e de atividade de água (a_w) iniciais.

2.6. Determinação do teor de umidade e atividade de água (a_w). O teor de umidade inicial das polpas de pitanga e dos materiais de parede (MD, AM e GA) e das microcápsulas foi determinado gravimetricamente. Amostras de 10g, em triplicata, foram colocadas em estufa a vácuo (TECNAL, TE 395, Piracicaba, SP) e mantidas a 35°C por até 16 horas ou até peso constante. A atividade de água (a_w) foi aferida em triplicata a $25 \pm 0^\circ\text{C}$ no Decagon Aqualab CX-2T (Decagon Devices, Inc. Hopkins, Washington, EUA), com resolução de $0,01a_w$.

2.7. Determinação de carotenóides em toda a microcápsula. Após a hidratação das microcápsulas, os carotenóides foram extraídos com acetona fria, seguido de partição ao éter de petróleo com éter etílico, saponificação (KOH 10%), lavagem e concentração em rotaevaporador, conforme metodologia descrita por PORCU e RODRIGUEZ-AMAYA (2004). As análises cromatográficas dos carotenóides foram realizadas em um módulo de separação da Waters Corp. (modelo 2690, Milford, EUA), equipado com injetor automático, bomba quaternária, degasseificador a vácuo para 4 canais e detector de arranjo de diodos UV-visível (modelo Waters

996) controlados do “software” Millennium (versão 2010). A coluna foi C18 monomérica Spherisorb ODS2, (4,6 x 150mm, 3µm) (Waters Corp., Milford, Massachusetts, EUA). A fase móvel foi composta por metanol, acetato de etila e acetonitrila em eluição por gradiente côncavo (curva 10) de 10:0:90 até 20:20:60, em 60 minutos com vazão de 0,5mL/min. O reequilíbrio se deu em 15 minutos. A detecção foi feita no comprimento de onda máximo para cada carotenóide. Os extratos foram secos com nitrogênio, dissolvidos em 1-3mL de acetona, filtrado em filtro de politetrafluoretileno (PTFE) 0,22µm de poro e 10µL foram injetados no cromatógrafo.

2.8. Determinação dos carotenóides na superfície externa das microcápsulas. A extração dos carotenóides nas superfícies externas das microcápsulas seguiu a metodologia descrita por KSHIRSAGAR e SINGHAL (2008). Após adição de 100mL de éter de petróleo, a amostra (5g) foi mantida sob agitação contínua por 10 minutos em temperatura ambiente (25°C). A concentração dos carotenóides internos nas microcápsulas é obtida pela diferença entre a concentração em toda a microcápsula e na superfície externa.

2.9. Determinação de flavonóides. Os flavonóides foram determinados conforme metodologia descrita por HOFFMANN-RIBANI e RODRIGUEZ-AMAYA (2008). Em 15g de amostra foram adicionados 25mL de metanol e 10mL de HCl com 0,04% de ácido ascórbico. A hidrólise dos flavonóides foi realizada numa concentração de 0,6M HCl em 40 minutos a 90°C Os extratos resfriados foram completados a 50mL com metanol, filtrados em peneira de 130 mesh e depois por filtro PTFE (Millipore) de 0,22µm de diâmetro, para análise por CLAE. As análises cromatográficas dos flavonóides foram realizadas em módulo de separação da Waters (modelo 2690, Milford, EUA), equipado com injetor manual “Rheodyne” (modelo 7725i), bomba quaternária e degasseificador DG401 a vácuo para 4 canais e detector de arranjo de diodos UV-visível (modelo Waters 996), controlados do “software” Millennium (versão 32). A coluna de

separação foi Symmetry C18 (2,1 x 150mm, 3,5 μ m) (Waters Corp., Milford, Massachusetts, EUA), sendo a detecção fixada em 370nm e espectros na faixa de 200-600nm. A fase móvel foi composta de metanol e água acidificados com 0,3% de ácido fórmico, num gradiente multilinear na proporção inicial de 20:80 até 48:52 em 6 minutos, sendo mantida até 29 minutos, em seguida mudada para 28:72 em 2 minutos e mantida esta proporção até 40 minutos de corrida cromatográfica. Finalmente, a fase móvel foi retornada a condição inicial (20:80) em 3 minutos e mantida nesta condição até 60 minutos para o reequilíbrio da coluna para a próxima injeção. O fluxo foi de 0,2mL/minuto e o volume de amostra injetado foi de 10 μ L.

A identificação dos carotenóides e flavonóides foi realizada por comparação dos tempos de retenção, co-cromatografia e com os espectros de absorção com padrões. A quantificação foi por padronização externa. Curvas de calibrações foram construídas pela injeção, em triplicatas, de soluções-padrão em cinco concentrações crescentes, cobrindo a faixa de concentração esperada nas amostras.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Estabilidade dos carotenóides e flavonóides microencapsulados por *spray drying*.

As embalagens comerciais de polietileno transparente utilizadas no estudo de estabilidade apresentaram espessura média de $38 \pm 1\mu\text{m}$ e alta permeabilidade ao oxigênio atmosférico ($5740 \pm 130\text{cm}^3 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{dia}^{-1}$). A intensidade média de luz incidida foi de $345 \pm 10\text{lux}$, com transmissão de luz (300-800nm) de $85 \pm 3\%$, através do filme plástico. Estes parâmetros demonstram que o experimento de fotodegradação de carotenóides e flavonóides da polpa de pitanga liofilizada e microencapsulada se deu em condições de alta disponibilidade de oxigênio e de luz.

A polpa liofilizada apresentou a mais baixa atividade de água ($0,23 \pm 0,01a_a$). As microcápsulas confeccionadas com amido modificado ($0,41 \pm 0,01a_a$) e maltodextrina ($0,40 \pm 0,02a_a$) e goma arábica ($0,38 \pm 0,01a_a$) não diferiram significativamente em suas a_a . Os teores de umidade iniciais variaram de 8-12% nas amostras liofilizadas e microencapsuladas.

O modelo cinético de primeira ordem foi o que melhor se adequou à degradação dos carotenóides da polpa de pitanga liofilizada e microencapsulada. Na polpa liofilizada, o licopeno apresentou um período de indução de cerca de 10 dias (Figura 1). Este período de indução também foi observado por PADULA e RODRIGUEZ-AMAYA (1999) em sistema modelo com licopeno padrão.

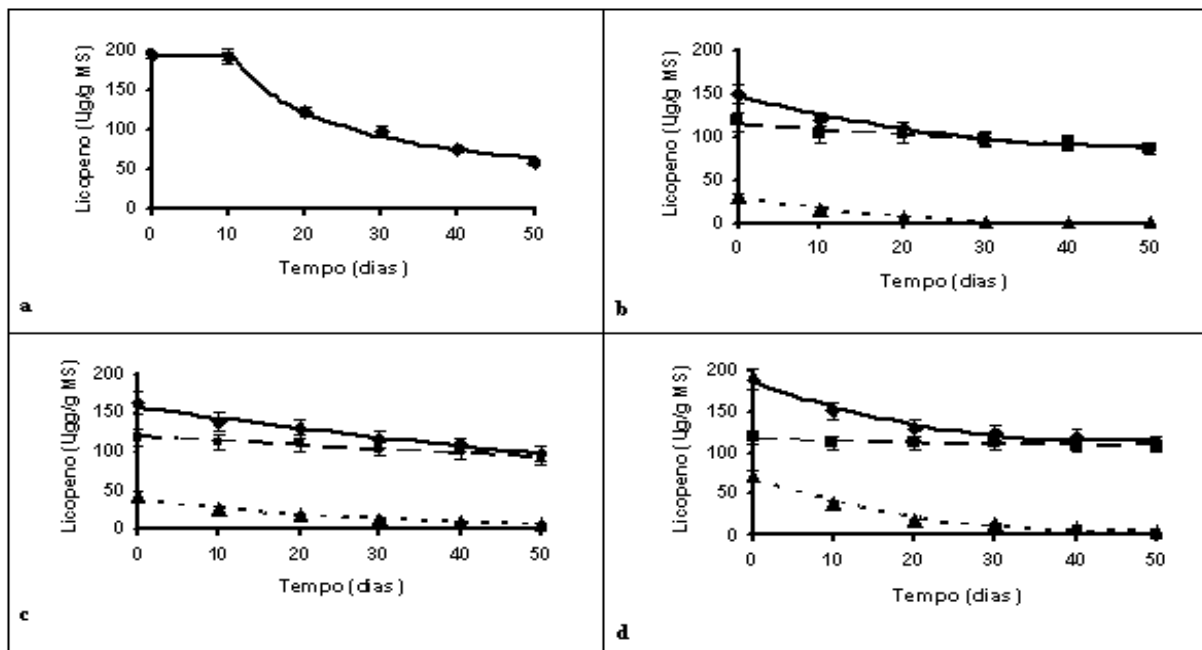


Figura 1. Concentração de licopeno em polpa de pitanga (a) liofilizada, (b) microencapsulada em maltodextrina, (c) microencapsulada em amido modificado, (d) microencapsulada em goma arábica: total (◆) externo (▲) e interno (■).

A fotoxidação do licopeno se deu, predominantemente, nas superfícies externas das microcápsulas por até 30 dias de estocagem. No final do período experimental as concentrações do licopeno da polpa microencapsulada foram superiores e diferiram significativamente das amostras liofilizadas. A perda de licopeno na polpa liofilizada após 50 dias de estocagem foi de 70%, enquanto que nas microcápsulas de maltodextrina, amido modificado e goma arábica estas perdas chegaram, no máximo, a 40%.

A degradação da β -criptoxantina, do β -caroteno e da luteína na polpa de pitanga liofilizada e microencapsulada são apresentadas nas Figuras 2, 3 e 4. Observam-se dois momentos sequenciais na cinética de primeira ordem. No primeiro momento, a redução nas concentrações dos carotenóides se deu predominantemente com a fotoxidação dos carotenóides externos, num período que variou de 20 a 40 dias.

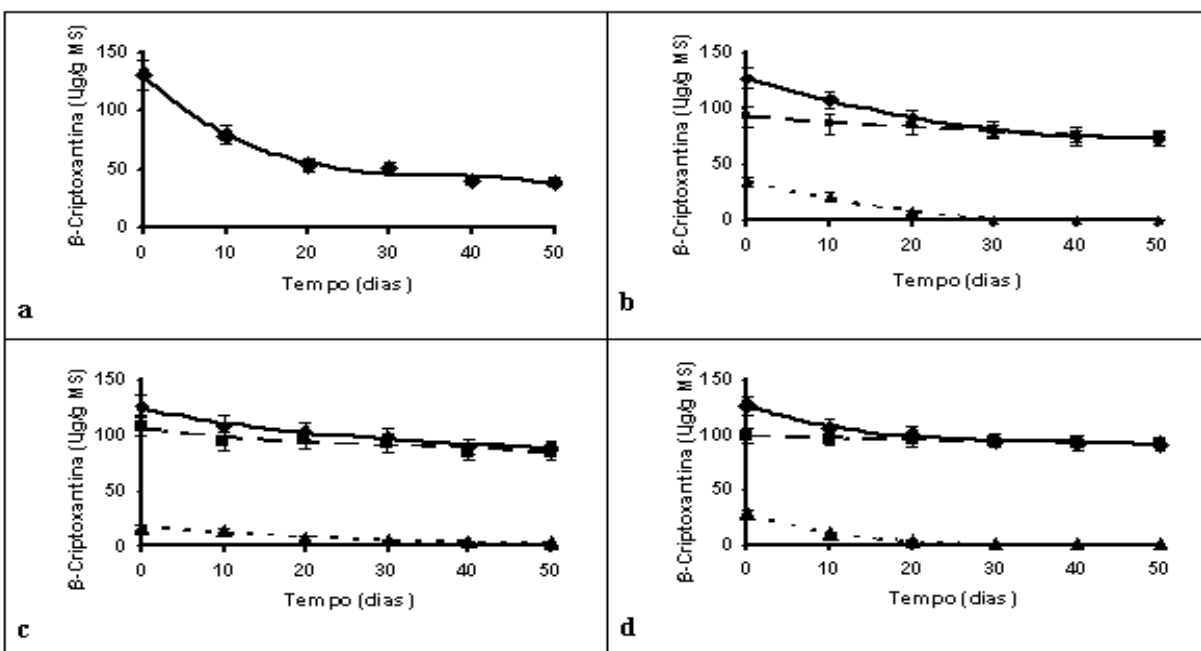


Figura 2. Concentração de β -criptoxantina em polpa de pitanga (a) liofilizada, (b) microencapsulada em maltodextrina, (c) microencapsulada em amido modificado, (d) microencapsulada em goma arábica: total (\blacklozenge) externo (\blacktriangle) e interno (\blacksquare).

No segundo momento observa-se uma redução contínua, porém em proporções menores. Este comportamento cinético também foi observado por DESOBRY *et al.* (1997, 1999), por MATIOLI e RODRIGUEZ-AMAYA (2002) e por BARBOSA *et al.* (2005).

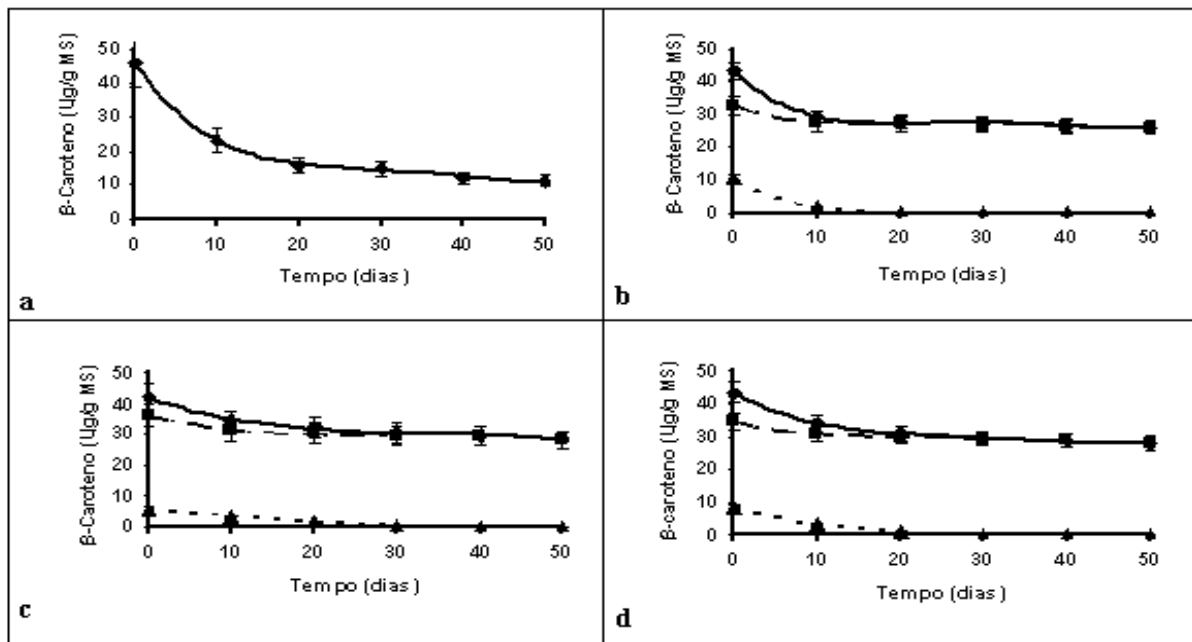


Figura 3. Concentração de β -caroteno em polpa de pitanga (a) liofilizada, (b) microencapsulada em maltodextrina, (c) microencapsulada em amido modificado, (d) microencapsulada em goma arábica: total (\blacklozenge) externo (\blacktriangle) e interno (\blacksquare).

A goma arábica foi a material de parede que mais protegeu o β -caroteno e a β -criptoxantina durante a estocagem das microcápsulas. As retenções destes carotenóides foram de até 70% dos valores iniciais.

Os carotenóides efetivamente microencapsulados (internos nas microcápsulas) foram os que apresentaram as melhores estabilidades em todo o período experimental e para todos os

materiais de paredes pesquisados. Estes resultados indicam que a microencapsulação da polpa de pitanga protege os carotenóides da ação da luz e do oxigênio.

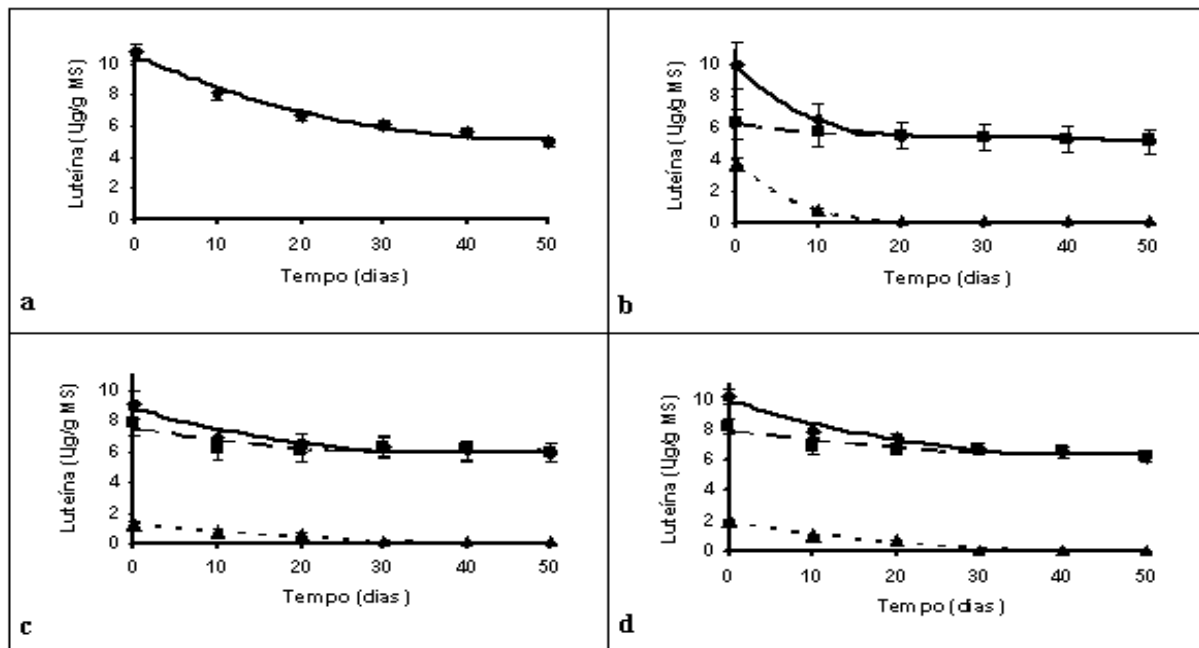


Figura 4. Concentração de luteína em polpa de pitanga (a) liofilizada, (b) microencapsulada em maltodextrina, (c) microencapsulada em amido modificado, (d) microencapsulada em goma arábica: total (◆) externo (▲) e interno (■).

Todos os carotenóides da polpa de pitanga microencapsulada apresentaram uma maior redução nas concentrações, nos primeiros dias de estocagem e em todos os materiais de parede. Ao contrário do que se pode ver para os carotenóides, os flavonóides da polpa de pitanga microencapsulada (Figura 5) não apresentaram perdas iniciais acentuadas. No entanto, estas perdas prevaleceram em todo o período de estocagem.

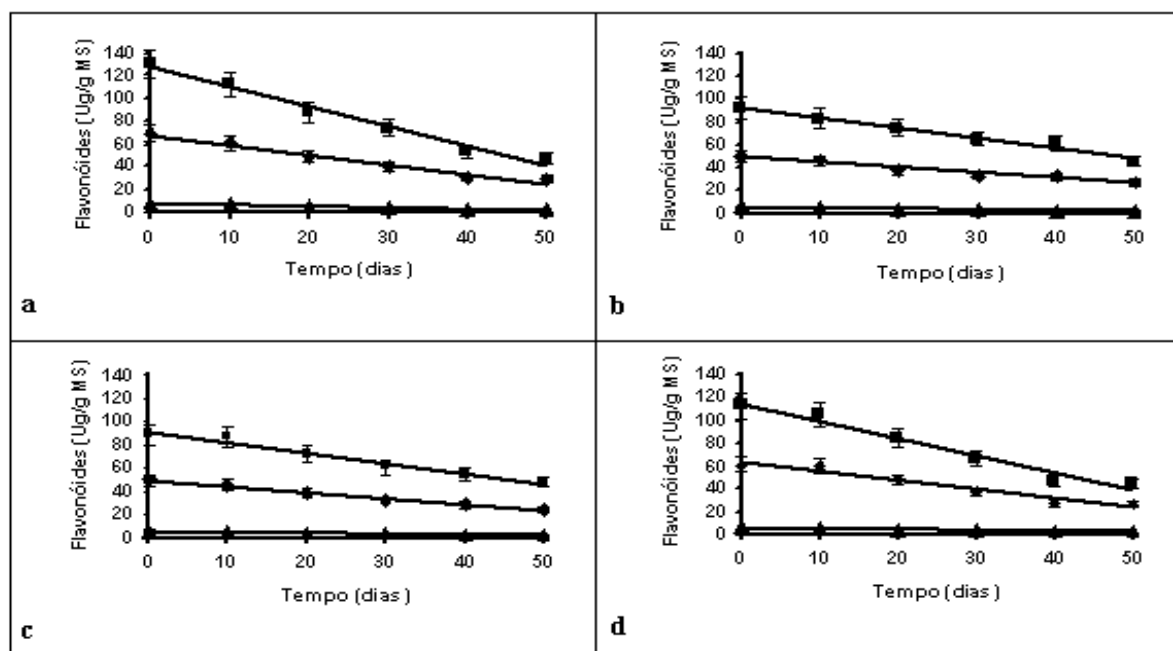


Figura 5. Concentrações de quercetina (■) miricetina (◆) e kaempferol (▲) em polpa de pitanga liofilizada (a) e nas microcápsulas de maltodextrina (b), amido modificado (c) e goma arábica (d).

As degradações dos flavonóides se adequaram ao modelo cinético de ordem zero. A microencapsulação por *spray drying* reduziu as concentrações iniciais da quercetina, flavonóide majoritário, em relação à polpa de pitanga liofilizada.

Após 50 dias de estocagem na presença de luz e oxigênio, as concentrações dos flavonóides nas polpas de pitangas microencapsuladas foram maiores e diferiram significativamente em relação aos encontrados nas polpas liofilizadas. A miricetina manteve as maiores concentrações na polpa de pitanga microencapsulada em goma arábica em todo o período experimental e ao término sua concentração foi de 34µg/g em base seca, diferindo significativamente com a sua concentração na polpa liofilizada (28µg/g em base seca). O

kaempferol, flavonóide minoritário, foi o que mais degradou durante os 50 dias de exposição à luz e ao oxigênio, com reduções de 47-55% nas microcápsulas e de 72% na polpa liofilizada.

Os parâmetros cinéticos da fotoxidação dos carotenóides e dos flavonóides da polpa de pitanga liofilizada e microencapsulada são apresentados na Tabela 1. As constantes de velocidade (k) de fotoxidação dos carotenóides localizados nas superfícies das microcápsulas de pitanga resultaram em menores tempos de meia vida ($t_{1/2}$). As taxas de degradação ($\mu\text{g}\cdot\text{dia}^{-1}$) destes carotenóides foram maiores que os internos, em todos os materiais de paredes, com tempos de meia vida variando de 4-19 dias, sendo que as microcápsulas de goma arábica foram as que apresentaram as menores taxas de degradação e os maiores tempos de meia vida.

Houve pequena diferença nos parâmetros cinéticos para a degradação dos carotenóides totais entre as microcápsulas confeccionadas com goma arábica e maltodextrina, mas observa-se uma tendência de maiores taxas de degradação e menores tempos de meia vida para os carotenóides totais nas microcápsulas de amido modificado

De modo geral, os flavonóides tiveram tempos de meia vida maiores que os carotenóides e em todas as microcápsulas. Para a miricetina e a quercetina da polpa de pitanga microencapsuladas, os parâmetros cinéticos não indicam diferenças marcantes entre os materiais de parede utilizados.

Pouca variação nas taxas de degradação e nos tempos de meia vida ($47 < t_{1/2} < 68$) foram obtidas para a miricetina e o quercetina. O kaempferol apresentou maiores taxas de degradações e menores tempos de meia vida ($28 < t_{1/2} < 54$).

Tabela 1. Parâmetros cinéticos da fotodegradação de carotenóides e flavonóides da polpa de pitanga microencapsulada e liofilizada.

Polpa de pitanga	Ordem Cinética	Constante de velocidade de reação ($\mu\text{g}\cdot\text{dia}^{-1}$)	Tempo de meia vida (dias)	Coefficiente de Correlação (R^2)	
Liofilizada					
Licopeno	Primeira	0,023	30	0,90	
β -Caroteno	Primeira	0,054	13	0,97	
β -Criptoxantina	Primeira	0,045	16	0,99	
Luteína	Primeira	0,016	45	0,96	
Miricetina	Zero	1,201	37	0,97	
Quercetina	Zero	1,316	35	0,98	
Kaempferol	Zero	1,438	28	0,92	
Microencapsulada					
Maltodextrina					
Licopeno	Total	Primeira	0,010	68	0,98
	Externo	Primeira	0,036	19	0,97
β -Caroteno	Total	Primeira	0,008	87	0,98
	Externo	Primeira	0,054	13	0,97
β -Criptoxantina	Total	Primeira	0,007	99	0,98
	Externo	Primeira	0,042	17	0,97
Luteína	Total	Primeira	0,009	79	0,98
	Externo	Primeira	0,052	13	0,97
Miricetina		Zero	0,754	68	0,99
Quercetina		Zero	0,881	58	0,92
Kaempferol		Zero	0,927	53	0,98
Amido modificado					
Licopeno	Total	Primeira	0,011	63	0,98
	Externo	Primeira	0,060	12	0,97
β -Caroteno	Total	Primeira	0,010	69	0,98
	Externo	Primeira	0,176	3,9	0,97
β -Criptoxantina	Total	Primeira	0,011	63	0,98
	Externo	Primeira	0,046	15	0,97
Luteína	Total	Primeira	0,013	52	0,98
	Externo	Primeira	0,154	4,5	0,97
Miricetina		Zero	0,899	56	0,99
Quercetina		Zero	0,799	62	0,98
Kaempferol		Zero	0,942	54	0,99
Goma arábica					
Licopeno	Total	Primeira	0,010	67	0,98
	Externo	Primeira	0,062	11	0,97
β -Caroteno	Total	Primeira	0,009	80	0,98
	Externo	Primeira	0,100	6,9	0,97
β -Criptoxantina	Total	Primeira	0,007	105	0,98
	Externo	Primeira	0,099	7	0,97
Luteína	Total	Primeira	0,010	71	0,98
	Externo	Primeira	0,051	14	0,97
Miricetina		Zero	1,015	47	0,96
Quercetina		Zero	0,919	51	0,97
Kaempferol		Zero	1,062	44	0,98

4. CONCLUSÃO

A microencapsulação conferiu maior estabilidade aos carotenóides e aos flavonóides de polpa de pitanga durante a estocagem em condições de alta exposição ao oxigênio e luz, quando comparado à polpa liofilizada. Mesmo considerando as perdas iniciais inerentes ao tratamento térmico no processo de secagem por *spray drying*, a goma arábica foi o material de parede com maior eficiência da microencapsulação da polpa de pitanga e promoveu maior estabilidade durante a estocagem.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AZEVEDO-MELEIRO, C. H.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Confirmation of the identity of tropical fruits by HPLC-DAD and HPLC-MS. **Journal of Food Composition and Analysis**, 17, 385-396, 2004.
- BARBOSA, M. I. M. J.; BORSARELLI, C. D.; MERCADANTE, A. Z. Light stability of spray-dried bixin encapsulated with different edible polysaccharide preparations. **Food Research International**, 38, 989-994, 2005.
- BRUSSELMANS, K.; VROLIX, R.; VERHOEVEN, G.; SWINNEN, J. V. Induction of Cancer cell apoptosis by flavonoids is associated with their ability to inhibit fatty acid synthase activity. **The Journal of Biological Chemistry**, 280, 5636-5645, 2005.
- DESOBRY, S. A.; NETTO, F. M.; LABUZA, T. P. Comparison of spray-drying, drum-drying and freeze-drying for β -carotene encapsulation and preservation. **Journal of Food Science**, 62, 1158-1162, 1997.

- DESOBRY, S. A.; NETTO, F. M.; LABUZA, T. P. Influence of maltodextrin systems at an equivalent 25DE on encapsulated β -carotene loss during storage. **Journal of Food Processing Preservation**, 23, 39-55, 1999.
- DRUSCH, S.; SCHWARZ, K. Microencapsulation proprieties of two different types of n-octenylsuccinate-derivatised starch. **European Food Research and Technology**, 222, 155-164, 2006.
- FREYRE, M. R.; BAIGORRIA, C. M.; ROZYCKI, V. R.; BERNARDI, C. M.; CHARPENTIER, M. Vegetales silvestres sub explotados del Chaco argentino y su potencial como recurso alimenticio. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, 50, 394-399, 2000.
- HOFFMANN-RIBANI, R.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Otimização de método para determinação de flavonóis e flavonas em frutas por cromatografia líquida de alta eficiência utilizando delineamento estatístico e análise de superfície de resposta. **Química Nova**, 31, 1378-1384, 2008.
- HOFFMANN-RIBANI, R.; HUBER, L. S.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Flavonols in fresh and processed Brazilian fruits. **Journal of Food Composition and Analysis**, 22, 263-268, 2009.
- KIMURA, M.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. A scheme for obtaining standards and HPLC quantification of leafy vegetable carotenoids. **Food Chemistry**, 78, 389-398, 2002.
- KSHIRSAGAR, A. C.; SINGHAL, R. S. Preparation of hydroxypropyl corn and amaranth starch hydrolyzate and its evaluation as wall material in microencapsulation. **Food Chemistry**, 108, 958-964, 2008.

- MATIOLI, G.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Licopeno encapsulado em goma arábica e maltodextrina: estudo da estabilidade. **Brazilian Journal of Food Technology**, 5, 197-203, 2002.
- PADULA, M.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **Degradação de beta-caroteno e cantaxantina em sistema-modelo de baixa umidade a temperatura ambiente: formação de produtos não-voláteis**. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas. 1999.
- PORCU, O. M.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **Fatores que influenciam na composição de carotenóides em goiaba, acerola, pitanga e seus produtos processados**. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas. 2004.
- RIMM, E. B.; KATAN, M. B.; ASCHERIO, A.; STAMPFER, M. J. Relation between intake of flavonoids and risk for coronary heart disease in male health professionals. **Annals of Internal Medicine**, 125, 384-389, 1996.
- SHU, B.; YU, W.; ZHAO, Y.; LIU, X. Study on microencapsulation of lycopene by spray-drying. **Journal of Food Engineering**, 76, 664-669, 2006.
- WANG, C. Y.; CHEN, C-T; WANG, S. Y. Changes of flavonoid content and antioxidant capacity in blueberries after illumination with UV-C. **Food Chemistry**, 117, 426-431, 2009.

CAPÍTULO 6

Efeito da alta pressão hidrostática nos carotenóides da polpa de cajá (*Spondias mombin L.*).

JOSÉ EMILSON MACÊDO FERREIRA

DELIA B. RODRIGUEZ-AMAYA

AMAURI ROSHENTAL

Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Departamento de
Ciência de Alimentos, Campinas, SP, Brasil.

RESUMO

O processamento sob alta pressão hidrostática (APH) é uma tecnologia não térmica que vem sendo pesquisada e utilizada pela indústria de alimentos, pois pode inativar microrganismos, desnaturar enzimas e estender a validade dos alimentos, ao mesmo tempo em que preserva melhor os atributos como a cor, sabor e valor nutricional, sendo indicada para alimentos funcionais ricos em compostos bioativos termossensíveis. O cajá (*Spondias mombin* L.) é um fruto carotenogênico nativo das regiões Norte e Nordeste do Brasil, muito comercializado na forma de polpa para a fabricação de sorvetes e sucos. Foram avaliados os efeitos das condições de tempo e pressões usadas na APH nos teores e na isomerização dos carotenóides da polpa de cajá, utilizando a metodologia de superfície de resposta. As amostras-controle (não pressurizadas) e as pressurizadas não diferiram significativamente nas concentrações dos *trans*-carotenóides, embora houve uma tendência de decréscimo nestes isômeros. As concentrações dos *cis*-isômeros foram significativamente maiores nas amostras pressurizadas, com exceção do β -caroteno. Acima de 400MPa e por mais de 15 minutos de pressurização, fica mais evidente a tendência de redução da forma *trans* em todos os carotenóides estudados e de modo inverso, uma elevação das concentrações de *cis*-carotenóides na polpa de cajá pressurizada.

Palavras chaves: Cajá; alta pressão hidrostática; carotenóides.

ABSTRACT

High hydrostatic pressure (HHP) processing is a non-thermal technology that has been investigated and utilized by the food industry because it can inactivate microorganisms, denature enzymes and extend the shelf-life of foods, while preserving better such attributes as color, flavor and nutritional value, therefore more appropriate for functional foods rich in heat-sensitive bioactive compounds. *Caja* (*Spondias mombin* L.) is a carotenogenic fruit native to the Northern and Northeastern regions of Brazil, marketed in the form of pulp for the fabrication of ice creams and juices. The effects of HHP conditions (time and pressure) on the levels and isomerization of the carotenoids of the pulp of this fruit were evaluated, using Response Surface Methodology. The control (not pressurized) and pressure-treated samples did not differ significantly in the concentrations of the *trans*-carotenoids, although there was a tendency of these isomers to decrease. With the exception of β -carotene, *cis*-isomers were significantly higher in the pressure-treated samples. The tendency of the *trans*-form of all the carotenoids studied to decrease and, inversely, the elevation of the concentrations of the *cis*-carotenoids became more evident above 400MPa and more than 15 minutes of pressurization.

Key words: Cajá, high hydrostatic pressure, carotenoids.

1. INTRODUÇÃO

Nos dias atuais, os consumidores julgam a qualidade dos alimentos baseados em seus atributos sensoriais e nutricionais (por exemplo, textura, sabor, aroma, cor, teor de vitaminas) que juntamente com a validade, a segurança e o preço determinam à preferência individual por produtos específicos (NORTON e SUN, 2008). A procura por alimentos cada vez mais saudáveis e prontos para o consumo abre espaço para pesquisa de novas tecnologias que possam preservar a qualidade das matérias primas.

O potencial da tecnologia da APH vem chamando a atenção para aplicações pela indústria de alimentos. Semelhante ao tratamento térmico, a APH inativa microrganismos, desnatura enzimas e estende a validade dos alimentos. Ao mesmo tempo, preserva melhor os atributos como a cor, sabor e valor nutricional (OEY *et al.*, 2008), sendo indicada para alimentos funcionais ricos em compostos bioativos termossensíveis (CAMPOS *et al.* 2003). Os efeitos da APH sobre ligações não-covalentes como pontes de hidrogênio, ligações iônicas e interações hidrofóbicas, dependem do grau de compressão e da temperatura inicial do alimento. Por outro lado, as ligações covalentes são pouco afetadas pela APH (BUTZ e TAUSCHER, 2002; NORTON e SUN, 2008; OEY *et al.*, 2008).

A APH se adequa melhor a alimentos fluidos como leite (PFLANZER *et al.*, 2008), vinho (CORRALES *et al.* 2008), e principalmente sucos e polpas de frutos como uva (DEL POZO-INSFRAN *et al.* 2007), tomate (FERNÁNDEZ GARCÍA *et al.*, 2001; KREBBERS *et al.*, 2003; SÁNCHEZ-MORENO *et al.*, 2006; QIU *et al.*, 2006; HSU, 2008; HSU *et al.* 2008; PATRAS *et al.* 2009), laranja (BUTZ *et al.*, 2003; 2004; POLYDERA *et al.* 2003; 2005a; 2005b; SÁNCHEZ-MORENO *et al.* 2003), groselha (KOUNIAKI *et al.* 2004), maçã e brócolis (HOUSKA *et al.* 2006) e melão (WOLBANG *et al.* 2008).

O Brasil dispõe de uma grande diversidade de frutas tropicais nativas. A espécie *Spondias mombin* L. é uma árvore frutífera pertencente a família *Anacardiaceae*, sendo encontrada nos mais variados tipos de vegetação, com maior frequência na mata atlântica e floresta amazônica, principalmente nos estados do Norte e Nordeste (SAMPAIO *et al.*, 2007). Atualmente, encontra-se amplamente disseminado em quase todo o Brasil. Na Amazônia, esta fruta é conhecida por taperebá; em São Paulo e Minas Gerais, por cajazeira miúda e cajá pequeno; nos estados do Sul por cajazeira ou cajá mirim e na maioria dos estados do Nordeste, onde ocorre espontaneamente em condições silvestre, é conhecido por cajá (BOSCO *et al.*, 2000). Em Pernambuco, esta espécie apresenta alta diversidade genética (SILVA *et al.*, 2009). Logo, as características físicas e químicas dos frutos variam muito em função do genótipo. Sua comercialização se dá para o consumo de fruta fresca ou como polpa congelada para o preparo de sucos, picolés, sorvetes, néctares e geléias (SOARES *et al.*, 2006).

O cajá um fruto carotenogênico cuja cor é devida à presença de carotenóides. O carotenóides majoritário neste fruto é a β -criptoxantina, mas apresenta ainda o β -caroteno, a luteína, o α -caroteno, e a zeinoxantina (RODRIGUEZ-AMAYA e KIMURA, 1989; GODOY e RODRIGUEZ-AMAYA, 1994; HAMANO e MERCADANTE, 2001)

Pela sua alta insaturação, estes compostos são susceptíveis a oxidação e isomerização. RODRIGUEZ e RODRIGUEZ-AMAYA (2007, 2009) apresentaram evidências para β -caroteno e licopeno que a oxidação se inicia com a formação de epoxicarotenóides de apocarotenais e é acompanhada por isomerização de *trans*-carotenóides para *cis*-carotenóides. Ambos isômeros são sujeitos à oxidação.

Os efeitos da APH na estabilidade e isomerização dos carotenóides precisam ser melhor investigados e os resultados comparados com os de produtos obtidos por processos convencionais

(SCHIEBER e CARLE, 2005). Portanto, esta pesquisa teve por objetivo avaliar os efeitos da APH nos carotenóides da polpa de cajá (*Spondias mombin* L.), utilizando a metodologia de superfície de resposta (MSR).

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Amostras e tratamento por APH. A polpa de cajá (*Spondias mombin* L.) sem tratamento térmico foi fornecida por indústria processadora de sucos localizada no Estado de Sergipe, sendo acondicionada em embalagens plásticas e congelada. Em seguida, foi transportada para a Planta Piloto da Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro, onde foi mantida a -18°C . Após descongelamento, a polpa de cajá foi dividida em porções de 50mL e acondicionada em embalagens plásticas de polietileno resistentes à pressão e termosseladas com a retirada do ar. As embalagens foram previamente esterilizadas por irradiação.

O processamento da polpa de cajá por APH foi realizado no equipamento isostático Stansted Food Lab 9000 (Stansted Fluid Power Ltd., Essex, Inglaterra), com câmara de pressão de 250mL de capacidade nominal e pressão de operação máxima de 900MPa. As polpas embaladas foram imersas em uma solução de água e etanol (30/70 v/v) como meio de pressurização. Os ensaios foram realizados na Planta Piloto II da Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro.

2.2. Reagentes e padrões. No preparo dos extratos e obtenção de padrões de carotenóides, foram utilizados acetona, éter etílico e éter de petróleo, grau PA da Labsynth Ltda. São Paulo/SP. Para as fases móveis das análises por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) foram utilizados acetonitrila, metanol e acetato de etila, grau cromatográfico (Mallinckrodt Baker, Philipsburg,

EUA). A fase móvel foi filtrada em filtro de politetrafluoretileno (PTFE) da Millipore (São Paulo, SP), com poros de 0,22 μ m de diâmetro.

Para obtenção de padrões de carotenóides foi utilizada a metodologia descrita por KIMURA e RODRIGUEZ-AMAYA (2002), para isolamento por cromatografia em coluna aberta e o grau de pureza avaliado por CLAE.

2.3. Planejamento experimental. O delineamento experimental por metodologia de superfície de resposta (MSR) foi realizado com 11 ensaios (tratamentos) executados por ordem de sorteio, variando-se a pressão de 157 a 441MPa e o tempo de 3 a 17 minutos (Tabela 1). A composição das duas variáveis independentes (a pressão hidrostática e o tempo) foi estudada em esquema fatorial 2² no Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR), com três repetições no ponto central e 4 ensaios nas condições axiais (Tabela 2). As amostras-controle (não pressurizadas) e as pressurizadas da polpa de cajá foram analisadas em triplicatas. A superfície de resposta foi representada pelo modelo matemático apresentado por RODRIGUES e IEMMA (2005). Foi feita a análise de variância (ANOVA) com o teste de F (nível de significância de 5%) para se determinar a significância, utilizando-se o “Software Statistic for Windows”, na versão 7.0 da STATSOFT. Para a comparação entre as médias, foi utilizado o Teste de Tukey no nível de significância de 5%.

Tabela 1. Níveis codificados para as variáveis independentes do delineamento experimental aplicado a polpa de cajá processada a APH.

VARIÁVEL	Níveis codificados				
	-1,41	-1	0	+1	+1,41
Pressão hidrostática (MPa)	157	200	300	400	441
Tempo (minutos)	3	5	10	15	17

2.4. Determinação de carotenóides. Após o descongelamento, as polpas de cajá foram pesadas (3g) e os carotenóides foram extraídos com acetona fria, seguido de partição em éter de petróleo com éter etílico, saponificação (10% KOH durante a noite em temperatura ambiente e no escuro), lavagem com água e concentração em rotaevaporador, conforme metodologia descrita por RODRIGUEZ-AMAYA (1999). Os extratos foram secos sob fluxo de nitrogênio e logo antes da injeção no cromatógrafo, foram dissolvidos em 1-3mL de acetona, grau HPLC, filtrados em filtro de politetrafluoretileno (PTFE), e uma alíquota de 10µL foi injetada.

As análises cromatográficas dos carotenóides foram realizadas em um módulo de separação da Waters (modelo 2690, Milford, EUA), equipado com injetor automático, bomba quaternária, degasseificador a vácuo para 4 canais e detector de arranjo de diodos UV-visível (modelo Waters 996), controlados do “software” Millennium (versão 2010). Foi utilizada uma coluna monomérica C18, Spherisorb ODS2, (4,6 x 150mm, 3µm). A detecção foi feita no comprimento de onda máximo para cada carotenóide. A fase móvel foi composta por metanol, acetato de etila e acetonitrila, todos com grau HPLC e nas proporções iniciais de 10:0:90 mudando para 20:20:60, em gradiente côncavo (curva 10) em 60 minutos. O fluxo foi de 0,5mL/min e o reequilíbrio se deu em 15 minutos.

A identificação dos carotenóides foi feita por comparação dos tempos de retenção, co-cromatografia com padrões e pelos espectros de absorção. A quantificação foi realizada por padronização externa. Curvas de calibração foram construídas pela injeção, em triplicatas, de soluções-padrão em cinco concentrações crescentes de cada carotenóide, cobrindo a faixa de concentração esperada nas amostras.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste estudo dos efeitos da APH sobre os carotenos e xantofilas da polpa de cajá, foram escolhidos o β -caroteno, α -caroteno, β -criptoxantina e luteína por serem os carotenóides majoritários. As concentrações destes carotenóides em suas formas *trans* e *cis* são apresentadas na Tabela 2. Embora houvesse uma tendência de diminuição com o processamento de APH, as concentrações de todos os *trans*-carotenóides não diferiram significativamente entre as amostras pressurizadas e as amostras-controle. Resultados semelhantes foram obtidos por FERNANDEZ-GARCÍA *et al.* (2001) e por BUTZ *et al.* (2002; 2003) com tomate submetido a 600MPa. HOUŠKA *et al.* (2006) não obtiveram mudança significativa no teor de carotenos em suco de maçã com brócolis pressurizado a 500MPa por 10 minutos e estocado por até 34 dias. Entre 500 e 800MPa FERNANDEZ-GARCÍA e BUTZ (2001) também não obtiveram mudanças significativas nos teores de β -caroteno e α -caroteno em suco misto de laranja, melão e cenoura.

O estudo da isomerização foi dificultado pelas baixas concentrações dos *cis*-isômeros, uma vez que estes isômeros sofrem oxidação na medida em que são formados. No entanto, algumas tendências podem ser observadas. As concentrações de *cis*-isômeros nas polpas de cajá pressurizadas foram estatisticamente maiores em relação à polpa não pressurizada, exceto para o β -caroteno que mesmo com concentrações menores, a diferença não foi estatisticamente significativa. Este resultado indica que a pressurização da polpa de cajá entre 157 e 441MPa em intervalos de tempo de 3 a 17 minutos provoca isomerização. QIU *et al.* (2006) não observaram mudanças significativas nas concentrações do 13-*cis*-licopeno em polpa de tomate submetida a 600MPa por 12 minutos e BUTZ *et al.* (2002) não detectou a presença de *cis*- β -caroteno e de *cis*-licopeno em tomate *in natura* pressurizado em condição isobárica por 60 minutos. Estes resultados indicam que os efeitos da APH sobre os carotenóides variam com a intensidade

Tabela 2. Delineamento composto central rotacional (DCCR) na otimização das concentrações de carotenóides da polpa de cajá submetida à alta pressão hidrostática.

ENSAIO	Pressão (MPa)	Tempo (minutos)	Concentração ($\mu\text{g/g}$ peso úmido)*							
			β -Criptoxantina		β -Caroteno		α -Caroteno		Luteína	
			<i>Trans</i>	<i>cis</i>	<i>Trans</i>	<i>cis</i>	<i>Trans</i>	<i>cis</i>	<i>Trans</i>	<i>cis</i>
Controle	0,1	0	16,2 \pm 0,1 ^a	0,8 \pm 0,2 ^b	1,8 \pm 0,1 ^a	0,8 \pm 0,2 ^a	1,1 \pm 0,1 ^a	0,1 \pm 0,0 ^c	4,2 \pm 0,1 ^a	0,5 \pm 0,2 ^b
8	157	10	16,2 \pm 0,1 ^a	0,9 \pm 0,1 ^{ab}	1,8 \pm 0,1 ^a	0,8 \pm 0,1 ^a	1,0 \pm 0,0 ^a	0,2 \pm 0,0 ^b	3,9 \pm 0,1 ^a	0,9 \pm 0,2 ^a
1	200	5	16,1 \pm 0,1 ^a	1,0 \pm 0,1 ^{ab}	1,8 \pm 0,0 ^a	0,8 \pm 0,1 ^a	1,0 \pm 0,0 ^a	0,2 \pm 0,0 ^b	4,0 \pm 0,1 ^a	0,9 \pm 0,0 ^a
2	200	15	15,5 \pm 0,2 ^a	1,7 \pm 0,4 ^{ab}	1,8 \pm 0,1 ^a	0,8 \pm 0,2 ^a	1,0 \pm 0,0 ^a	0,3 \pm 0,1 ^{ab}	4,0 \pm 0,0 ^a	0,9 \pm 0,1 ^a
11	300	3	16,1 \pm 0,1 ^a	0,9 \pm 0,4 ^{ab}	1,8 \pm 0,1 ^a	0,8 \pm 0,0 ^a	1,0 \pm 0,0 ^a	0,2 \pm 0,0 ^b	4,0 \pm 0,1 ^a	0,9 \pm 0,1 ^a
5	300	10	16,0 \pm 0,2 ^a	1,1 \pm 0,3 ^{ab}	1,8 \pm 0,1 ^a	0,8 \pm 0,1 ^a	0,9 \pm 0,0 ^a	0,3 \pm 0,0 ^{ab}	3,9 \pm 0,0 ^a	1,0 \pm 0,2 ^a
6	300	10	15,7 \pm 0,0 ^a	1,4 \pm 0,0 ^{ab}	1,8 \pm 0,0 ^a	0,8 \pm 0,0 ^a	1,0 \pm 0,0 ^a	0,3 \pm 0,0 ^{ab}	4,0 \pm 0,1 ^a	1,0 \pm 0,2 ^a
7	300	10	16,0 \pm 0,1 ^a	1,1 \pm 0,4 ^{ab}	1,8 \pm 0,1 ^a	0,8 \pm 0,0 ^a	1,0 \pm 0,0 ^a	0,4 \pm 0,0 ^{ab}	4,0 \pm 0,0 ^a	0,9 \pm 0,1 ^a
9	300	17	15,7 \pm 0,1 ^a	1,5 \pm 0,7 ^{ab}	1,7 \pm 0,0 ^a	0,9 \pm 0,1 ^a	0,9 \pm 0,0 ^a	0,4 \pm 0,0 ^{ab}	4,0 \pm 0,1 ^a	1,0 \pm 0,0 ^a
3	400	5	15,5 \pm 0,3 ^a	1,7 \pm 0,1 ^{ab}	1,8 \pm 0,1 ^a	0,8 \pm 0,1 ^a	1,0 \pm 0,1 ^a	0,3 \pm 0,1 ^a	3,9 \pm 0,0 ^a	1,0 \pm 0,1 ^a
4	400	15	15,1 \pm 0,9 ^a	2,2 \pm 1,0 ^a	1,7 \pm 0,0 ^a	0,9 \pm 0,1 ^a	1,0 \pm 0,0 ^a	0,4 \pm 0,1 ^a	3,9 \pm 0,1 ^a	1,0 \pm 0,0 ^a
10	441	10	15,4 \pm 0,4 ^a	2,1 \pm 0,5 ^a	1,7 \pm 0,1 ^a	0,9 \pm 0,1 ^a	1,0 \pm 0,0 ^a	0,4 \pm 0,1 ^{ab}	4,0 \pm 0,1 ^a	1,1 \pm 0,1 ^a

*Média e desvio padrão de análises em triplicatas; médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente a nível de 5%.

do tratamento, com o tipo e a natureza/integridade da matriz alimentar e com os carotenóides envolvidos.

Nos demais trabalhos, não foi realizada a separação dos isômeros (FERNÁNDEZ GARCÍA *et al.*, 2001; KREBBERS *et al.*, 2003; SÁNCHEZ-MORENO *et al.*, 2006; PATRAS *et al.*, 2009; HSU, 2008; HSU *et al.*, 2008). A distinção entre isômeros geométricos é importante em relação à saúde uma vez que estes são absorvidos e metabolizados diferentemente pelo corpo humano (STAHL *et al.*, 1992; GAZIANO *et al.*, 1995; STAHL *et al.*, 1995; SCHIERLE *et al.*, 1997). Outros pesquisadores (BUTZ *et al.*, 2003; HOUSKA *et al.*, 2006; PLAZA *et al.*, 2006) observaram a elevação da concentração dos carotenóides em amostras pressurizadas. Uma vez que não há possibilidade de haver biossíntese de carotenóides durante o processamento, este aumento foi atribuído a maior extractabilidade dos carotenóides.

Conforme podem ser vistos nas Tabelas 3 e 4, os coeficientes de regressão, de determinação (R^2) e os valores de F não permitem gerar superfícies de respostas para as respostas obtidas para *trans* α -caroteno, *trans* luteína e para os *cis* β -criptoxantina. Mesmo assim, para melhor visualização das tendências de alterações, foram geradas as superfícies de resposta (Figura 1). Acima de 400MPa e por mais de 15 minutos de pressurização, fica mais evidente a tendência de redução da forma *trans* em todos os carotenóides estudados e de modo inverso, uma elevação na formação de *cis*-carotenóides na polpa de cajá pressurizada.

4. CONCLUSÃO

A estabilidade dos carotenóides em alimentos submetidos a APH depende do binômio pressão/tempo. Há uma tendência de diminuição de *trans*-carotenóides, porém em grau muito menor que nos processamentos convencionais, especialmente os térmicos. Ocorre, no entanto, a isomerização de *trans*-carotenóides para *cis*-carotenóides.

Tabela 3 – Estimativa dos coeficientes de regressão do modelo polinomial quadrático e significância (p-valor), para as respostas da tecnologia de alta pressão hidrostática na polpa de cajá.

	β-criptoxantina				β-caroteno				α-caroteno				Luteína			
	<i>trans</i>		<i>cis</i>		<i>trans</i>		<i>cis</i>		<i>trans</i>		<i>cis</i>		<i>trans</i>		<i>cis</i>	
	Coeficiente	p-valor	Coeficiente	p-valor	Coeficiente	p-valor	Coeficiente	p-valor	Coeficiente	p-valor	Coeficiente	p-valor	Coeficiente	p-valor	Coeficiente	p-valor
β_0	15,90	<0,0001	1,20	0,3814	1,80	<0,0001	0,80	<0,0001	0,98	<0,0001	0,33	<0,0001	3,97	<0,0001	0,97	<0,0001
β_1	-0,27	0,2223	0,36	0,6563	-0,03	0,0055	0,03	0,0055	-0,01	0,1972	0,06	0,0087	-0,01	0,7699	0,06	0,0156
β_{11}	-0,13	0,2540	-0,28	0,7701	-0,03	0,0592	0,02	0,0593	0,01	0,6202	-0,02	0,3778	-0,02	0,6274	0,01	0,6244
β_2	-0,20	0,0615	-1,18	0,1853	-0,03	0,0055	0,03	0,0055	-0,00	0,1463	0,06	0,0087	0,00	1,0000	0,02	0,3406
β_{22}	-0,08	0,4744	1,59	0,1409	-0,02	0,0592	0,02	0,0593	0,00	0,8107	-0,02	0,7778	0,01	0,7272	-0,02	0,4983
β_{12}	0,05	0,6825	-0,05	0,9650	-0,03	0,0414	0,03	0,0414	-0,01	0,6624	0,00	1,000	0,80	0,0000	0,00	1,0000

Tabela 4 – Equações que representam a resposta em função da pressão hidrostática (X_1) e do tempo de pressurização (X_2).

	Resposta	Equação Y = (média) (valores X_1 e X_2 codificados)	R^2	F_{CAL}	$F_{TAB} (\alpha, V_R, V_r)$
β-criptoxantina	<i>trans</i>	$Y = 15,90 - 0,27 X_1$	0,81	99,43	5,05
	<i>cis</i>	-----	0,50	5,73	5,05
β-caroteno	<i>trans</i>	$Y = 1,80 - 0,03 X_1 - 0,03 X_2 - 0,03 X_2^2$	0,96	62,63	5,05
	<i>cis</i>	$Y = 0,80 + 0,03 X_1 + 0,03 X_2 + 0,03 X_2^2$	0,96	2933	5,05
α-caroteno	<i>trans</i>	-----	0,54	5,73	5,05
	<i>cis</i>	$Y = 0,03 + 0,03 X_2$	0,89	36,65	5,05
Luteína	<i>trans</i>	-----	0,09	0,50	5,05
	<i>cis</i>	$Y = 0,97 + 0,60 X_1$	0,74	14,84	5,05

R^2 - coeficiente de determinação; F_{CAL} = (quadrado médio da regressão/quadrado médio de resíduo); α - nível de significância (5%); V_R - graus de liberdade da regressão; V_r - graus de liberdade do resíduo.

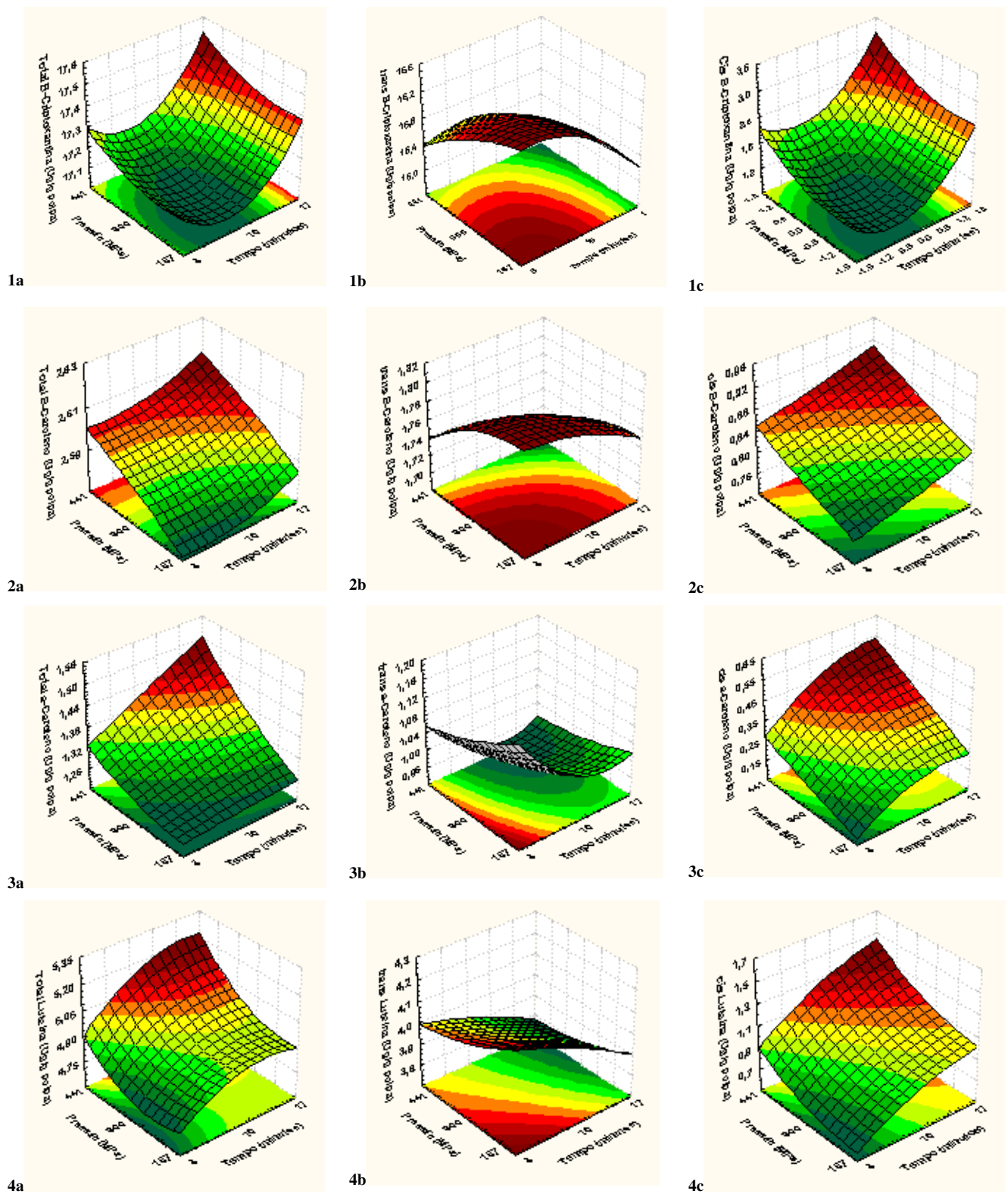


Figura 1. Superfície de resposta das concentrações de β -criptoxantina (1), β -caroteno (2), α -caroteno (3) e luteína (4) total (a) *trans* (b) e *cis* (c) da polpa de cajá submetida à APH.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BOSCO, J.; SOARES, K. T.; AGUIAR FILHO, S. P.; BARROS, R. V. **A cultura da cajazeira.** João Pessoa: EMEPA-PB, 2000. 229p. (Documento 28).
- BUTZ, P.; EDENHARDER, R.; FERNÁNDEZ GARCÍA, A.; FISTER, H.; MERKEL, C.; TAUSCHER, B. Changes in functional properties of vegetables induced by high pressure treatment. **Food Research International**, 35, 295-300, 2002.
- BUTZ, P.; FERNÁNDEZ GARCÍA, A.; LINDAUER, R.; DIETERICH, S.; BOGNÁR, A.; TAUSCHER, B. Influence of ultra high pressure processing on fruit and vegetable products. **Journal of Food Engineering**, 56, 233-236, 2003.
- BUTZ, P.; SERFERT, Y.; FERNÁNDEZ GARCÍA, A.; DIETERICH, S.; LINDAUER, R.; BOGNÁR, A.; TAUSCHER, B. Influence of high-pressure treatment at 25°C and 80°C on folates in orange juice and model media. **Journal of Food Science**, 69, 117-121, 2004.
- BUTZ, P.; TAUSCHER, B. Emerging technologies: chemical aspects. **Food Research International**, 35, 279-284, 2002.
- CAMPOS, F. P.; DOSULADO, G. L.; CRISTIANINI, M. Utilização da tecnologia de alta pressão no processamento de alimentos. **Brazilian Journal of Food Technology**, 6, 351-357, 2003.
- CORRALES. M.; BUTZ, P.; TAUSCHER, B. Anthocyanin condensation reactions under high hydrostatic pressure. **Food Chemistry**, 110, 627-635, 2008.
- DEL POZO-INSFRAN, D. DEL FOLLO-MARTINEZ, A. TALCOTT, S. T.; BRENES, C. H. Stability of copigmented anthocyanins and ascorbic acid in muscadine grape juice processed by high hydrostatic pressure. **Journal of Food Science**, 72, 247-253, 2007.

- FERNÁNDEZ GARCÍA, A.; BUTZ, P.; TAUCHER, B. Effects of high-pressure processing on carotenoid extractability, antioxidant activity, glucose diffusion, and water binding of tomato purée (*Lycopersicon esculentum* Mill.) **Sensory and Nutritive Qualities of Food**, 66, 1033-1038, 2001.
- FERNÁNDEZ GARCÍA, A.; BUTZ, P. Antioxidative capacity, nutrient content and sensory quality of orange juice and orange-lemon-carrot juice product after high pressure treatment and storage in different packaging. **European Food Research and Technology**, 213, 290-296, 2001.
- GAZIANO, J. M.; JOHNSON, E. J. RUSSEL, R. M. MANSON, J. E.; STAMPFER, M.J.; RIDKER, P. M.; FREI, B.; HENNEKENS, C. H.; KRINSKY, N. I. Discrimination in absorption or transport of β -carotene isomers after oral supplementation with either all-*trans*- or 9-*cis*- β -carotene. **American Journal of Clinical Nutrition**. 61, 1248-1252, 1995.
- GODOY, H. T.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Occurrence of *cis* isomers of provitamin A in Brazilian fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 42, 1306, 1313, 1994.
- HAMANO, P. S.; MERCADANTE, A. Z. Composition of carotenoids from commercial products of cajá (*Spondias lutea*). **Journal of Food Composition and Analysis**, 14, 335-343, 2001.
- HOUŠKA, M.; STROHALM, J.; KOCUROVÁ, K.; TOTUSEK, J.; LEFNEROVÁ, D.; TRISKA, J.; VRCHOTOVÁ, N.; FIEDLEROVÁ, V.; HOLASOVA, M.; GABROVSKA, D.; PAULÍCKOVÁ, I. High pressure and foods – fruit/vegetable juices. **Journal of Food Engineering**, 77, 386-398, 2006.
- HSU, K-C. Evaluation of processing qualities of tomato juice induced by thermal and pressure processing. **Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie**, 41, 450-459, 2008.

- HSU, K-C.; TAN, F-J; CHI, H-Y. Evaluation of microbial inactivation and physicochemical proprieties of pressurized tomato juice during refrigerated storage. **Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie**, 41, 367-375, 2008.
- KIMURA, M.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. A scheme for obtaining standards and HPLC quantification of leafy vegetable carotenoids. **Food Chemistry**, 78, 389-398, 2002.
- KOUNIAKI, S.; KAJDA, P.; ZABETAKIS, I. The effect of high hydrostatic pressure on antocyanins and ascorbic acid in blackcurrants (*Ribes nigrum*). **Flavour and Fragrance Journal**, 19, 281-286, 2004.
- KREBBERS, B.; MATSER, A. M.; HOOGERWERF, S. W.; MOEZELAAR, R.; TOMASSEN, M. M. M.; VAN DER BERG, R. W. Combined high-pressure and thermal treatments for processing of tomato purée: evaluation of microbial inactivation and quality parameters. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, 4, 377-385, 2003.
- NORTON, T.; SUN, D-W. Recent advances in the use of high pressure as an effective processing technique in the food industry. **Food Bioprocess Technology**, 1, 2-34, 2008.
- OEY, I.; VAN DER PLANCKEN, I.; VAN LOEY, A.; HENDRICKX, M. Does high pressure influence nutrition aspects of plant based food systems? **Trends in Food Science & Technology**, 19, 300-308, 2008.
- PATRAS, A.; BRUNTON, N.; PIEVE, S. D.; BUTLER, F.; DOWNEY, G. Effect of thermal and high pressure processing on antioxidant activity and instrumental colour of tomato and carrot purées. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, 10, 16-22, 2009.
- PFLANZER, S. B.; CRUZ, A. G.; HATANAKA, C. L.; GIGANTE, M.L. Revisão: Efeito do processamento por alta pressão hidrostática nas características físico-químicas,

- microbiológicas e nutricionais do leite. **Brazilian Journal of Food Technology**, 11, 241-251, 2008.
- PLAZA, L.; SÁNCHEZ-MORENO, C.; DE ANCOS, B.; CANO, M. P. Carotenoid content and antioxidant capacity of Mediterranean vegetable soup (*gazpacho*) treated by high-pressure/temperature during refrigerated storage. **European Food Research and Technology**, 223, 210-215, 2006.
- POLYDERA, A. C.; STOFOROS, N. G.; TAOUKIS, P. S. Comparative shelf life study and vitamin C loss kinetics in pasteurized and high pressure processed reconstituted orange juice. **Journal of Food Engineering**, 60, 21-29, 2003.
- POLYDERA, A. C.; STOFOROS, N. G.; TAOUKIS, P. S. Effect of hydrostatic pressure treatment on post processing antioxidant activity of fresh Navel orange juice. **Food Chemistry**, 91, 495-503, 2005a.
- POLYDERA, A. C.; STOFOROS, N. G.; TAOUKIS, P. S. Quality degradation kinetics of pasteurized and high pressure processed fresh Navel orange juice: Nutritional parameters and shelf life. **Food Chemistry**, 91, 495-503, 2005b.
- QIU, W.; JIANG, H.; WANG, H.; YULONG, G. Effect of high hydrostatic pressure on lycopene stability. **Food Chemistry**, 97, 516-523, 2006.
- RODRIGUES, M. I.; IEMMA, A. F. **Planejamento de experimentos e otimização de processos: uma estratégia sequencial de planejamento**. 1ª ed., Casa do Pão Editora, Campinas, SP. 2005. 326p.
- RODRIGUEZ. B.E.; RODRIGUEZ-AMAYA D. B. Formation of apocarotenals and epoxy-carotenoids from β -carotene by chemical reactions and by autoxidation in model systems and processed foods. **Food Chemistry**, 101, 563-572, 2007.

- RODRIGUEZ. B.E.; RODRIGUEZ-AMAYA D. B. Lycopene epoxides and apo-lycenals formed by chemical reactions and autoxidation in model systems and processed foods. **Journal of Food Science**, 674-682, 2009.
- RODRIGUEZ-AMAYA D. B. **A guide to carotenoid analysis in foods**. Washington D.C.: ILSI Press. 1999. 64p.
- RODRIGUEZ-AMAYA D. B.; KIMURA, M. Carotenóides e valor de vitamina A em cajá (*Spondias lútea*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 9, 148-162. 1989.
- SAMPAIO, S. A.; BORA, P. S.; HOLSCHUH, H. J.; SILVA, S. M. Postharvest respiratory activity and changes in some chemical constituents during maturation of yellow mombin (*Spondias mombin*) fruit. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 27, 511-515, 2007.
- SÁNCHEZ-MORENO, C.; PLAZA, L.; DE ANCOS, B.; CANO, M. P. Vitamin C, provitamin A carotenoids, and other carotenoids in high-pressurized orange juice during refrigerated storage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 51, 647-653, 2003.
- SÁNCHEZ-MORENO, C.; PLAZA, L.; DE ANCOS, B.; CANO, M. P. Impact of high-pressure and traditional thermal processing of tomato purée on carotenoids, vitamin C and antioxidant activity. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 86, 171-179, 2006.
- SCHIEBER, A.; CARLE, R. Occurrence of carotenoid *cis*-isomers in food: technological, analytical, and nutritional implications. **Trends in Food Science & Technology**, 16, 416-422, 2005.
- SCHIERLE, J.; BRETZEL, W.; BUHLER, L.; FACCIN, N.; HESS, D.; STEINER, K.; SCHUEP, W. Content and isomeric ratio of lycopene in food and human blood plasma. **Food Chemistry**, 59, 459-465. 1997.

- SILVA, E. F.; MARTINS, L. S. S.; OLIVEIRA, V. R. Diversity and genetic structure in cajá tree (*Spondias mombin* L.) populations in northeastern Brazil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 31, 171-181, 2009.
- SOARES, E. B.; GOMES, R. L. F.; CARNEIRO, J. G. M.; NASCIMENTO, F. N.; SILVA, I. C. V.; COSTA, J. C. L. Caracterização física e química de frutos de cajazeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 28, 518-519, 2006.
- STAHL, W.; SCHWARZ, W.; SUNDQUIST, A. R.; SIES, H. *Cis-trans* isomers of lycopene and β -carotene in human serum and tissues. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, 294, 173-177, 1992.
- STAHL, W.; SCHWARZ, W. VON LAAR, J.; SIES, H. All-trans β -carotene preferentially accumulates in human chylomicrons and very low density lipoproteins compared with the 9-cis geometrical isomer. **The Journal of Nutrition**, 125, 2128-2133, 1995.
- WOLBANG, C. M.; FITOS, J. L.; TREEBY, M. T. The effect of high pressure processing on nutritional value and quality attributes of *Cucumis melo* L. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, 9, 196-200, 2008.

CAPÍTULO 7

Microfiltração de polpas de tomate, goiaba e pitanga – comportamento dos compostos bioativos

JOSÉ EMILSON MACÊDO FERREIRA

FLÁVIO LUÍS SCHMIDT

DELIA B. RODRIGUEZ-AMAYA

Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Departamento de
Ciência de Alimentos, Campinas, SP, Brasil.

RESUMO

As frutas tropicais vêm atraindo a atenção do mercado internacional, não apenas por seus sabores e formas exóticas, mas pelos valores nutricionais e funcionais. Os processos de separação por membranas como a microfiltração (MF), a ultrafiltração (UF) e a osmose inversa (OI) surgem como alternativas aos métodos tradicionais de processamento de sucos e polpas de frutas. A goiaba vermelha, a pitanga e o tomate são frutos ricos em licopeno e outros carotenóides, e contém flavonóides e ácido ascórbico. Avaliar o comportamento destes compostos bioativos em sucos microfiltrados foi o objetivo deste trabalho. Não houve a permeação dos carotenóides através da membrana filtrante, concentrando-se no retentado em valores significativamente superiores aos encontrados nas frutas *in natura*. Mesmo com permeação dos flavonóides através das membranas, as concentrações no retentado foram duas vezes maiores para os três frutos em estudo, em relação aos obtidos nos permeados. O ácido ascórbico foi o composto que mais permeou. No entanto, houve perdas em todas as etapas de processamento. Nas etapas de despulpamento e no tratamento enzimático foram observadas reduções nas concentrações dos carotenóides, flavonóides e ácido ascórbico em relação as suas concentrações nas frutas *in natura*.

Palavras chave: Goiaba; pitanga; tomate; microfiltração; carotenóides; flavonóides; vitamina C.

ABSTRACT

Tropical fruits are attracting attention in the international market, not only because of their exotic flavors and forms, but by their nutritional and functional values. Separation processes, such as microfiltration (MF), ultrafiltration (UF) and reverse osmosis (RO) have emerged as alternatives to traditional methods of processing fruit juices and pulps. Red-fleshed guava, pitanga and tomato are fruits rich in lycopene and other carotenoids, flavonoids and ascorbic acid. This work had the objective of evaluating the comportament of these bioactive compounds in microfiltered juices of these fruits. Carotenoids did not permeate through the membrane, concentrating instead in the retentates at concentrations significantly superior to those of the fresh fruits. Although flavonoids permeated through the membrane, their concentrations in the retentates of the three fruits were twice those in the permeates. Ascorbic acid was the compound that permeated more. However, there were losses in all steps of the processing. In the pulping and enzymatic treatment, reductions in the concentrations of carotenoids, flavonoids and ascorbic acid were observed, as compared to the fresh fruits.

Key words: Guava, pitanga, tomato, microfiltration, carotenoids, flavonoids, vitamin C.

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos cresceu o interesse dos consumidores pelas frutas e hortaliças por serem fontes de compostos bioativos responsáveis pela redução do risco de doenças crônicas não transmissíveis como câncer e doenças cardiovasculares. Dentre estes compostos de interesse, os carotenóides, os flavonóides e a vitamina C são importantes e têm efeitos aditivos ou até sinérgicos contra estas doenças. De fato, as evidências científicas para alimentos, especialmente frutas e hortaliças, são muito mais fortes e convincentes do que para compostos bioativos isolados (RODRIGUEZ-AMAYA e AMAYA-FARFAN, 2008).

Frutas tropicais vêm atraindo a atenção do mercado internacional, não apenas por seus sabores e formas exóticas, mas pelos valores nutricionais e funcionais de suas polpas e sucos. No entanto, há limitações quanto à escala de produção e de processamento que preservem os seus ingredientes funcionais com as tecnologias de processamento adotadas.

As membranas filtrantes têm aplicação na indústria de alimento no tratamento de efluentes (CHANG *et al.*, 2002; LIANG *et al.*, 2010), na concentração de constituintes do leite e do soro (FARIZOGLU *et al.*, 2004; SADDOUD *et al.*, 2007; ESPINA, *et al.*, 2008), na clarificação de sucos e bebidas (GAN *et al.*, 2001; SILVA *et al.*, 2005; LI, *et al.*, 2010) e na purificação de água (SUI, *et al.*, 2003).

Nos processos tradicionais de filtração de sucos de frutas, cerveja e vinho, as partículas em suspensão são filtradas perpendicular à membrana o que resulta no entupimento rápido e na redução do fluxo. Na microfiltração o fluxo é tangencial à superfície de filtração, o que torna o processo mais rápido e eficiente. Sendo um processamento não térmico, a MF pode ser uma alternativa interessante para frutas, com a justificativa de preservar melhor as suas substâncias bioativas.

Esta pesquisa teve como objetivo estudar o comportamento de carotenóides, flavonóides e da vitamina C nas etapas da microfiltração de polpa de tomate, goiaba e pitanga.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Amostras e enzimas. As goiabas e os tomates foram adquiridos na Central de Abastecimento de alimentos - CEASA/Campinas – SP. As pitangas foram colhidas em pomares domésticos na região de Nordeste do Brasil. No tratamento enzimático, foram utilizadas enzimas pectinolíticas comerciais (Pectinex, Novozymes, Bagsvaerd, Denmark) produzidas por linhagem selecionada de *Aspergillus aculeatus*, com predominância da β -glucanase e pequenas quantidades de xilanases, hemicelulases e celulases.

2.2. Reagentes e padrões. Os ácidos fórmico, ascórbico e clorídrico, acetona, éter etílico e éter de petróleo de grau analítico foram adquiridos da Labsynth Ltda. (São Paulo, SP). Acetonitrila, metanol e acetato de etila grau HPLC foram da Mallinckrodt Baker (Philipsburg, EUA). Todas as fases móveis foram filtradas em filtros de politetrafluoretileno (PTFE) da Millipore (São Paulo, SP), com poros de 0,22 μ m de diâmetro. Os padrões de miricetina, quercetina e kaempferol foram da Sigma Chemicals Co. (St. Louis, EUA). As soluções estoque dos padrões foram preparadas pela dissolução de cada flavonóide em metanol grau cromatográfico, em concentração de aproximadamente 500 μ g/mL e conservados a -18° C protegidos da luz e com validade de 2 meses, nestas condições. Os padrões de carotenóides foram isolados por cromatografia em coluna aberta seguindo metodologia descrita por KIMURA e RODRIGUEZ-AMAYA (2002).

2.3. Delineamento experimental. Os resultados obtidos das análises de cada fruta e em todas as etapas da microfiltração foram analisados estatisticamente por ANOVA ($p < 0,05$), com comparação das médias (Teste de Tukey, 5%) em programa GraphPad Prism (Versão 2.01).

2.4. Microfiltração. Após ensaios prévios, nos quais foram testadas diversas pectinases comerciais e em diferentes concentrações, temperaturas e tempos de hidrólise enzimática, foi adotado o procedimento desenvolvido por CLARETO e GARCÍA (2007).

As frutas foram selecionadas e lavadas em água corrente e desinfetadas em água hiperclorada (15ppm de cloro ativo). No despoldamento, as frutas foram colocadas na despoldadeira, onde sob agitação mecânica foram desintegradas e a polpa passada em peneira de aço inox (300mesh). O tratamento enzimático foi então realizado com 5 mg/100g da enzima Pectinex[®] por 30 minutos à 40°C. Após o despoldamento e o tratamento enzimático, as polpas de tomate, goiaba e pitanga foram microfiltradas em equipamento Tia micropilote (Techniques Industrielles Appliquées, Bollène, França), operando com quatro membranas tubulares de cerâmica, em série, com 0,2µm de diâmetro e perfazendo uma área total de permeação de 0,02m² (Figura 1). A microfiltração ocorreu numa pressão transmembrana de 1,5bar até fator de concentração volumétrica 2.

2.5. Determinação de carotenóides. Foram pesadas 1-3g de amostras em cada etapa do fluxograma (Figura 2). Os carotenóides foram extraídos com acetona fria, seguido de partição para éter de petróleo com éter etílico. A etapa de saponificação com KOH 10% durante a noite em temperatura ambiente e no escuro foi realizada apenas com a polpa de pitanga. Seguiram-se a lavagem com água e concentração em rotaevaporador e remoção do solvente sob fluxo de nitrogênio conforme metodologia descrita por PORCU e RODRIGUEZ-AMAYA (2004). Os

extratos foram dissolvidos em 1-3mL de acetona, filtrados em filtro de politetrafluoretileno (PTFE) 0,22 μ m de poro e 10 μ L foram injetados no cromatógrafo.

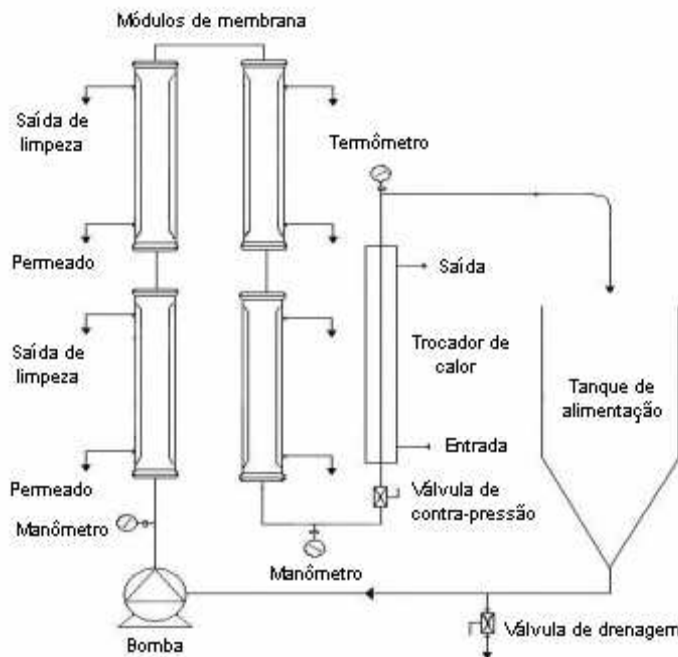


Figura 1. Esquema do equipamento de microfiltração (CLARETO e GARCÍA, 2007).

As análises cromatográficas dos carotenóides foram realizadas em um módulo de separação da Waters Corp. (modelo 2690, Milford, MA, EUA), equipado com injetor automático, bomba quaternária, degasseificador a vácuo para 4 canais e detector de arranjo de diodos UV-visível (modelo Waters 996), controlados do “software” Millennium (versão 2010). A coluna foi C18 monomérica Spherisorb ODS2, (4,6 x 150mm, 3 μ m) (Waters Com., Milford, MA, EUA). A fase móvel foi composta por metanol, acetato de etila e acetonitrila, em eluição por gradiente côncavo (curva 10) de 10:0:90 até 20:20:60, em 60 minutos. A vazão foi de 0,5mL/min e o reequilíbrio se deu em 15 minutos. A detecção foi feita no comprimento de onda máximo para cada carotenóide.

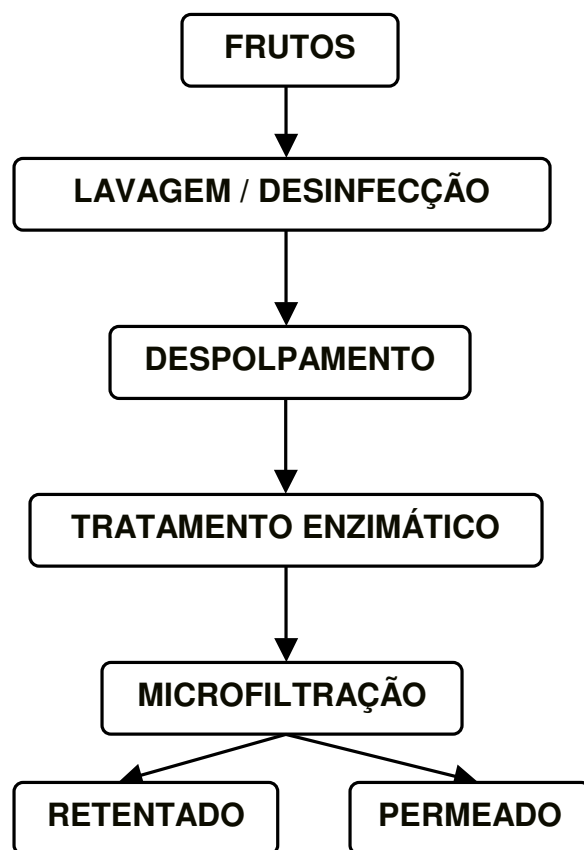


Figura 2. Fluxograma da microfiltração de polpa de fruta.

2.6. Determinação de flavonóides. A 15g de amostra, foram adicionados 25mL de metanol e 10mL de HCl (v/v) com 0,04% de ácido ascórbico. Para a polpa de pitanga, a extração e hidrólise dos flavonóides foi realizada com 0,6M HCl em 40 minutos de hidrólise a 90°C e para a polpa de goiaba numa concentração de 0,6M HCl em 55 minutos de hidrólise a 90°C, conforme metodologia otimizada por HOFFMANN-RIBANI e RODRIGUEZ-AMAYA (2008). Para a extração/hidrólise do tomate, foi utilizada a metodologia descrita por STEWART *et al.* (2000) com 1,2M HCl em 120 minutos de hidrólise a 90°C. Os extratos resfriados foram completados a 50mL com metanol, filtrados em peneira de 130mesh e depois por filtro de politetrafluoretileno

(PTFE) Millipore de 0,22µm de diâmetro, para análise por CLAE. As análises cromatográficas dos flavonóides foram realizadas em módulo de separação da Waters Corp. (modelo 2690, Milford, EUA), equipado com injetor manual “Rheodyne” (modelo 7725i), bomba quaternária e degasseificador DG401 a vácuo para 4 canais e detector de arranjo de diodos UV-visível (modelo Waters 996), controlados do “software” Millennium (versão 32). A coluna de separação foi o Symmetry C18 (2,1x150mm, 3,5µm) (Waters Corp., Milford, MA, EUA). A detecção foi fixada em 370nm e os espectros foram obtidos na faixa de 200 a 600nm. A fase móvel foi composta de metanol e água acidificados com 0,3% de ácido fórmico, num gradiente multilinear nas proporções iniciais de 20:80 alterada para 48:52 em 6 minutos, sendo mantida até 29 minutos. Em seguida foi mudada para 28:72 em 2 minutos, esta proporção mantida até 40 minutos. O tempo de reequilíbrio foi de 20 minutos. O fluxo foi de 0,2mL/minuto. O volume de amostra injetado foi de 10µL. A identificação dos carotenóides e flavonóides foi realizada por comparação dos tempos de retenção, co-cromatografia e com os espectros de absorção, comparados com padrões. A quantificação foi por padronização externa. Curvas de calibrações foram construídas pela injeção, em triplicatas, de soluções-padrão em cinco concentrações crescentes, cobrindo a faixa de concentração esperada nas amostras.

2.7. Determinação de vitamina C. Adotou-se o método padrão da AOAC (1984), modificado por BENASSI e ANTUNES (1998) para análise de vitamina C em amostras (20g). Após a adição de 50mL de solução extratora (ácido oxálico 2%), numa relação de 1:2,5 (amostra:solução extratora), as amostras foram homogeneizadas em homogeneizador polytron (PT-2100, Kinematica AG, Lucerne, Switzerland) a 11.000rpm. Os extratos foram filtrados em papel de filtro e uma alíquota de 10mL foi retirada para titulação com solução padronizada de 2,6-diclorofenilindolifenol (DCFI) 0,01%. O ponto de viragem foi detectado visualmente pela cor

rosa, com prevalência de mais de 5 segundos. Este método se baseia na redução do corante DCFI por intermédio do ácido L-ascórbico, que reage direta e quantitativamente com o corante, reduzindo-se e oxidando-se ao ácido dehidroascórbico.

As análises de carotenóides, flavonóides e vitamina C foram realizadas em triplicatas, com amostras coletadas em várias etapas do fluxograma de microfiltração de tomate, goiaba e pitanga (Figura 2).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As concentrações de carotenóides, flavonóides e de vitamina C nas frutas *in natura*, polpas de fruta, polpas submetidas ao tratamento enzimático, nos retentados e permeados do tomate, goiaba e pitanga são apresentados na Tabela 1.

Não houve a permeação de licopeno e de β -caroteno de tomate e goiaba e de licopeno, luteína, β -caroteno e β -criptoxantina da pitanga através da membrana filtrante. Estes carotenóides se concentraram no retentado em torno de duas vezes superiores aos encontrados nas frutas *in natura*. Embora não tenha sido feita a quantificação individual dos carotenóides, esta concentração de carotenóides no retentado também foi observada na microfiltração de suco de melão (VAILLANT *et al.*, 2005), polpa de goiaba (CLARETO e GARCÍA, 2007), polpa de pitanga (ONGARATTO e VIOTTO, 2009) e suco de maracujá (VERA *et al.*, 2009).

Portanto, a microfiltração de polpa de frutas carotenogênicas poderia ser utilizada para concentração destes compostos, desde que se utilize uma tecnologia complementar que seja

Tabela 1. Concentrações de carotenóides, flavonóides e vitamina C em cada etapa do fluxograma de microfiltração de tomate, goiaba e pitanga.

Fruta	Concentração ($\mu\text{g/g}$ peso úmido) ^a				Concentração ($\mu\text{g/g}$ peso úmido) [*]			Vitamina C ($\text{mg}/100\text{g}$ peso úmido) ^a
	Licopeno	β -Caroteno	β -Criptoxantina	Luteína	Miricetina	Quercetina	Kaempferol	
Tomate								
<i>in natura</i>	36 ± 1^b	6 ± 0^b	—	—	$0,3 \pm 0,0^b$	8 ± 0^a	$0,4 \pm 0,0^b$	19 ± 1^a
Polpa	34 ± 1^{bc}	6 ± 0^b	—	—	$0,3 \pm 0,0^b$	4 ± 0^c	$0,3 \pm 0,0^b$	16 ± 1^{bc}
Trat.enzimático	33 ± 0^c	6 ± 0^b	—	—	$0,3 \pm 0,0^b$	4 ± 0^c	$0,3 \pm 0,0^c$	15 ± 0^{cd}
Retentado	63 ± 1^a	12 ± 1^a	—	—	$0,4 \pm 0,0^a$	5 ± 0^b	$0,4 \pm 0,0^a$	17 ± 1^{ab}
Permeado	n.d.	n.d.	—	—	$0,2 \pm 0,0^c$	2 ± 0^d	$0,2 \pm 0,0^d$	14 ± 0^d
Goiaba								
<i>in natura</i>	64 ± 1^b	4 ± 0^b	—	—	—	$11 \pm 0^{,b}$	—	60 ± 1^a
Polpa	64 ± 2^b	4 ± 0^c	—	—	—	11 ± 0^b	—	57 ± 0^b
Trat. enzimático	63 ± 0^b	4 ± 0^c	—	—	—	8 ± 0^c	—	50 ± 1^c
Retentado	109 ± 3^a	7 ± 0^a	—	—	—	14 ± 0^a	—	56 ± 1^b
Permeado	n.d.	n.d.	—	—	—	4 ± 0^d	—	23 ± 0^d
Pitanga								
<i>in natura</i>	75 ± 1^b	13 ± 0^b	45 ± 1^b	2 ± 0^b	42 ± 1^b	67 ± 2^b	4 ± 0^b	9 ± 0^a
Polpa	71 ± 1^c	$12, \pm 0^c$	43 ± 1^{bc}	2 ± 0^c	37 ± 0^c	61 ± 0^c	4 ± 0^{bc}	6 ± 0^c
Trat.enzimático	68 ± 1^d	12 ± 0^c	42 ± 0^c	2 ± 0^c	35 ± 0^d	55 ± 3^d	4 ± 0^c	6 ± 0^d
Retentado	108 ± 2^a	23 ± 0^a	83 ± 2^a	4 ± 0^a	50 ± 1^a	77 ± 1^a	6 ± 0^a	8 ± 0^b
Permeado	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	18 ± 1^e	38 ± 1^e	2 ± 0^d	5 ± 0^e

^{*} média e desvio padrão de análises em triplicatas; n.d. não detectado; médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente a nível de 5%.

efetiva na inativação de enzimas e na redução da carga microbiana, uma vez que estes também foram concentrados na matriz.

Foram observados também, níveis de flavonóides nos retentados significativamente superiores aos obtidos nas demais etapas de processamento, exceto para a quercetina com níveis superiores no tomate *in natura*. Mesmo com permeação dos flavonóides através das membranas, as concentrações nos retentados foram duas vezes maiores, em relação ao permeado para os três frutos em estudo. Resultado semelhante foi obtido por BOMBONATI e RODRIGUEZ-AMAYA (2009) em polpa de caju. A retenção de apigenina, luteonina e cianidinas pela membrana filtrante, também foi relatada por MENG *et al.* (2006) com extratos de *Perilla frutescens* (hortaliça folhosa bastante consumida nos países orientais).

O ácido ascórbico foi o composto que mais permeou, em termos proporcionais. A permeação da vitamina C foi maior no tomate e na pitanga e menor para a goiaba, onde a concentração no suco clarificado foi apenas de 50% do obtido no retentado. Em todos os casos, entretanto, os valores de vitamina C no retentado foram significativamente maiores aos encontrados nos sucos clarificados. Estes resultados também foram obtidos em microfiltrações em suco de caju por CAMPOS *et al.* (2002) e BOMBONATI e RODRIGUEZ-AMAYA (2009), suco de maracujá orgânico por SILVA *et al.* (2005) e polpa de pitanga por ONGARATTO e VIOTTO (2009).

A concentração da vitamina C nos frutos *in natura* foi significativamente maior que nas amostras das demais etapas do processamento, exceto no retentado do tomate. Em suco de acerola, MATTA *et al.* (2004a) não detectaram perdas de vitamina C após o processo de clarificação. No entanto, em outro estudo MATTA *et al.* (2004b) observaram reduções na concentração de ácido ascórbico durante a microfiltração do mesmo suco, e atribuíram-as a

possíveis oxidações relacionadas ao desenho inadequado do sistema piloto que induz a formação de vórtex (turbulência com incorporação de oxigênio) no tanque de alimentação do sistema.

Além do ácido ascórbico, houve perdas de carotenóides e flavonóides nas etapas de despolpamento e no tratamento enzimático.

4. CONCLUSÕES

A tecnologia de microfiltração de polpas de frutas para obtenção de suco clarificado apresenta limitações na manutenção dos teores de carotenóides, flavonóides e vitamina C, por haver problemas de permeação e perdas durante o processamento. Por outro lado, a retenção de carotenóides em sua totalidade no retentado indica a possibilidade de utilizar a microfiltração para a concentração de carotenóides, sem utilizar longos períodos de tratamento térmico drástico, evitando grandes perdas durante concentração. Portanto, novos estudos de MF devem se focalizar no retentado, com inativação de enzimas e microrganismos, sem degradações significativas dos compostos bioativos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BENASSI, M. T.; ANTUNES, A. J. A comparison of metaphosphoric and oxalic acids as extractant solution for the determination of vitamin C in selected vegetables. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, 31, 507-513, 1988.
- BOMBONATI, A. Y.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **Flavonóis em frutas e hortaliças – efeito do cozimento e microfiltração**. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. 2009.

- CAMPOS, D. C. P.; SANTOS, A. S.; WOLKOFF, D. B.; MATTA, V. M.; CABRAL, L. M. C.; COURI, S. Cashew apple juice stabilization by microfiltration. **Desalination**, 148, 61-65, 2002.
- CHANG, I. S.; CLECH, P.; JEFERSON, B.; JUDD, S. Membrane fouling in membrane bioreactors for wastewater treatment. **Journal of Environmental Engineering**, 128, 1018-1029, 2002.
- CLARETO, S. S.; GARCÍA, N. H. P. **Estudo da concentração de licopeno da polpa de goiaba utilizando o processo de microfiltração**. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. 2007.
- ESPINA, V. S.; JAFFRIN, M. Y.; FRAPPART, M.; DING, L. H. Separation of casein micelles from whey proteins by high shear microfiltration of skim milk using rotating ceramic membranes and organic membranes in a rotating disk module. **Journal of Membrane Science**, 325, 872-879, 2008.
- FARIZOGLU, B.; KESKINLER, B.; YILDIZ, E.; NUHOGLU, A. Cheese whey treatment performance of an aerobic jet loop membrane bioreactor. **Process Biochemistry**, 39, 2283-2291, 2004.
- GAN, Q.; HOWELL, J. A.; FIELD, R. W.; ENGLAND, R.; BIRD, M. R.; O'SHAUGHNESSY, C. L. ; MEKECHINIE, M. T. Beer clarification by microfiltration – product quality control and fraction of particles and macromolecules. **Journal of Membrane Science**, 194, 185-196, 2001.
- HOFFMANN-RIBANI, R.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Otimização de método para determinação de flavonóis e flavonas em frutas por cromatografia líquida de alta eficiencia

- utilizando delineamento estatístico e análise de superfície de resposta. **Química Nova**, 31, 1378-1384, 2008.
- KIMURA, M.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. A scheme for obtaining standards and HPLC quantification of leafy vegetable carotenoids. **Food Chemistry**, 78, 389-398, 2002.
- LI, M.; ZHAO, Y.; ZHOU, S.; XING, W. Clarification of raw rice wine by ceramic microfiltration membrane fouling analysis. **Desalination**, 256, 166-173, 2010.
- LIANG, Z.; DAS, A.; BEERMAN, D.; HU, Z. Biomass characteristics of two types of submerged membrane bioreactors for nitrogen removal from wastewater. **Water Research**, 44, 3313-3320, 2010.
- MATTA, V. M.; MORETTI, R. H.; CABRAL, L. M. C. Microfiltration and reverse osmosis for clarification and concentration of acerola juice. **Journal of Food Engineering**, 61, 477-482, 2004a.
- MATTA, V. M.; CABRAL, L. M. C.; SILVA, L. F. M. Suco de acerola microfiltrado: avaliação da vida-de-prateleira. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 24, 293-297, 2004b.
- MENG, L.; LOZANO, Y.; BOMBARDA, I.; GAYDOU, E.; LI, B. Anthocyanin and flavonoid production from *Perilla frutescens*: pilot plant scale processing including cross-flow microfiltration and reverse osmosis. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, 54, 4297-4303, 2006.
- ONGARATTO, R. S.; VIOTTO, L. A. Clarificação do suco de pitanga (*Eugenia uniflora* L.) e concentração de carotenóides por microfiltração e ultrafiltração. **Brazilian Journal of Food Technology**, VII BMCFB, 85-93, 2009.
- PORCU, O. M.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **Fatores que influenciam na composição de carotenóides em goiaba, acerola, pitanga e seus produtos processados**. Tese (Doutorado

em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas. 2004.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; AMAYA-FARFAN, J. **Perspectivas de inovação em alimentos funcionais**. In: A. ROSHENTAL (Org). Tecnologia de alimentos e inovações: tendências e perspectivas. Brasília, Embrapa. 1ª ed. p. 91-102. 2008.

SADDOUD, A.; HASSAÏRI, I; SAYADI, S. Anaerobic membrane reactor with phase separation for the treatment of cheese whey. **Bioresource Technology**, 98, 2102-2108, 2007.

SILVA, T. T.; MODESTA, R. C. D.; PENHA, E. M.; MATTA, V. M.; CABRAL, L. M. C. Suco de maracujá orgânico processado por microfiltração. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 40, 419-422, 2005.

STEWART, A. J.; BOZONNET, S.; MULLEN, W.; JENKINS, G.; LEAN, M. E. J.; CROZIER, A. Occurrence of flavonols in tomatoes and tomato-based products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 48, 2663-2669, 2000.

SUI, X.; HUANG, X. The characterization and water purification behavior of gradient ceramic membranes. **Separation and Purification Technology**, 32, 73-79, 2003.

VAILLANT, F.; CISSE, M.; CHAVERRI, M.; PEREZ, A.; DORNIER, M.; VIQUEZ, F.; DHUIQUE-MAYER, C. Clarification and concentration of melon juice using membrane processes. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, 6, 213-220, 2005.

VERA, E.; SANDEAUX, J.; PERSIN, F.; POURCELLY, G.; DORNIER, M.; RUALES, J. Deacidification of passion fruit juice by electrodialysis with bipolar membrane after different pretreatments. **Journal of Food Engineering**, 90, 67-73, 2009.

CONCLUSÕES GERAIS

Para a maior retenção dos carotenóides e flavonóides da pitanga, a microencapsulação deve ser realizada com goma arábica, com temperatura de entrada no *spray drying* de 150°C e proporção de 25% de polpa em relação ao material de parede.

A microencapsulação da polpa de pitanga por *spray drying* proporcionou maior proteção e estabilidade aos carotenóides e os flavonóides da ação da luz e do oxigênio, principalmente, quando a goma arábica foi usada como material de parede.

A alta pressão hidrostática não promoveu perdas significativas dos *trans*-carotenóides da polpa de cajá. Houve isomerização de *trans*-caarotenóies para *cis*-carotenóides em grau variado.

Os carotenóides foram retidos na membrana filtrante, nas microfiltrações de polpa de tomate, goiaba e pitanga. As concentrações de vitamina C e dos flavonóides foram significativamente maiores no retentado, em relação aos sucos clarificados.