

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

PATRICIA BARROS GOMES

PROCESSAMENTO DA POLPA DE CAGAITA EM SISTEMA DE MEMBRANAS DE
MICROFILTRAÇÃO E AVALIAÇÃO DAS PERDAS DE CAROTENOIDES PÓS-PROCESSO

RIO DE JANEIRO

2012



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

Patricia Barros Gomes

**PROCESSAMENTO DA POLPA DE CAGAITA EM
SISTEMA DE MEMBRANAS DE MICROFILTRAÇÃO
E AVALIAÇÃO DAS PERDAS DE CAROTENOIDES
PÓS-PROCESSO.**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio de Janeiro para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Sob Orientação da

Prof.^a Dr.^a Lucia Maria Jaeger de Carvalho

e Coorientação da

Prof.^a Dr.^a Mirian Ribeiro Leite Moura

2012

Gomes, Patrícia Barros

Processamento da polpa de cagaita em sistema de membranas de microfiltração e avaliação das perdas de carotenoides pós-processo / Patrícia Barros Gomes. -- Rio de Janeiro: UFRJ / Faculdade de Farmácia, 2012.

xx, 107 f. : il. ; 31 cm.

Orientador: Lucia Maria Jaeger de Carvalho e Miriam Ribeiro Leite Moura.

Dissertação (Mestrado) – UFRJ, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, 2012.

Referências bibliográficas: f. 116 - 127

1. Myrtaceae - fisiologia. 2. Eugenia - fisiologia. 3. Eugenia - química. 4. Micropeneiramento - métodos. 5. Micropeneiramento - análise. 6. Frutos - fisiologia. 7. Sucos. 8. Carotenóides - análise. 9. Carotenóides - química. 10. Análise de alimentos. 11. Cromatografia de Fase Reversa – métodos. 12. Reações químicas – métodos. 13. Filtração por membrana – métodos. 14. Filtração por membrana – análise. 15. Tecnologias de Alimentos – métodos. 16. Plantas. 17. Ciências Farmacêuticas - Tese. I. Carvalho, Patrícia Lucia Maria Jaeger de. II. Moura, Miriam Ribeiro Leite. III. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas. IV. Título.

PATRICIA BARROS GOMES

Processamento da polpa de cagaita (*Eugenia dysenterica*, DC) em sistema de membranas de microfiltração e avaliação das perdas de carotenoides pós-processo.

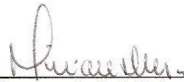
Dissertação apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio de Janeiro como requisito para obtenção do título de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas.

Aprovada em 14/08/2012.

Orientadores



Presidente, Professora Dr.^a Lucia Maria Jaeger de Carvalho
Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro



Professora Dr.^a Mirian Ribeiro Leite Moura
Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro

Banca Examinadora



Professor Dr. Antônio Jorge Ribeiro da Silva
Núcleo de Pesquisas de Produtos Naturais, Universidade Federal do Rio de Janeiro



Professora Dr.^a Carla Holandino Quaresma
Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro



Professora Dr.^a Gisela Maria Dellamora Ortiz
Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro

Membros Suplentes

Professor Dr. Lucio Mendes Cabral
Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro

Professor Dr. Marcelo de Pádula
Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro

DEDICATÓRIA

Aos meus pais por terem me mostrado o caminho e por me conduzirem por ele até aqui. Sem vocês eu, simplesmente, não seria. Aos meus avós José (*in memorian*) e Iracema (*in memorian*) pelo amor profundo e admiração recíproca. Como eu queria que estivessem aqui! Ao Rui, meu namorado, por todo amor, carinho, dedicação, cuidado, suporte, pela generosidade e por dividir a vida comigo. A todos os que foram meus mestres ao longo da minha caminhada por despertarem em mim a paixão pelo conhecimento. A todos os amigos e colegas, que contribuíram direta ou indiretamente para este trabalho. A todos que possam se beneficiar do conhecimento aqui disponível.

“Digno és, Jeová, sim, nosso Deus, de receber a glória, e a honra, e o poder, porque criaste todas as coisas e porque elas foram criadas por tua vontade.”

Revelação (Apocalipse) 4: 11

“Maravilhar-se é o primeiro passo para o descobrimento.”

Louis Pasteur

AGRADECIMENTOS

A Jeová Deus, por todas as maravilhas que criou, pelas condições que me permitiu para conhecê-las, pelo dom da vida, pelo amor e cuidado que demonstra comigo.

Ao meu pai, Paulo Pereira Gomes, meu maior incentivador e amigo, por acreditar em mim até quando eu não acredito. Por não me deixar desistir nunca! Por me oferecer sempre a mão e muitas vezes me conduzir. Por sua causa retomei minha vida e cheguei até aqui! O senhor é o homem mais importante da minha vida e merecedor do AMOR e RESPEITO eternos!

A minha mãe pelo incentivo, pelo apoio recebido durante toda a minha jornada: TE AMO.

A professora Lucia Maria Jaeger de Carvalho pela confiança, pela oportunidade de crescer e de superar os inúmeros obstáculos. APRENDI muito com você, não apenas no profissional, mas verdadeiras lições de vida e por isso serei ETERNAMENTE grata! Com muito carinho!

A professora Mirian Ribeiro Leite Moura, por ter aberto as portas do seu laboratório e por consequência da UFRJ. Por ter me dado uma oportunidade, por ter acreditado em mim, me incentivando sempre e por todo carinho que tem me dedicado. Sem a senhora, eu não teria chegado aqui!

A professora Gisela Dellamora Ortiz, por sua atenção e dedicação, suas contribuições precisosas foram indispensáveis para o meu desempenho e crescimento profissional! Agradeço profundamente.

A você Rui Gouvea Guimarães, meu namorado, amigo, companheiro, colaborador, confidente e incentivador por todo amor e tudo que me dedica. A você nenhum agradecimento será o suficiente!

Ao querido Ramon, que me recebeu de braços abertos no LABCBROM e em pouco tempo se tornou um grande parceiro, amigo e incentivador. Minha profunda e eterna gratidão.

Ao querido Guilherme Cruz, pelo apoio na recuperação dos dados, pela amizade, pelo carinho, pela dedicação e empenho constantes. Meu MUITO OBRIGADO!

Ao amigo Flavio Cardoso, pela amizade, carinho, apoio, incentivo, colaboração imprescindível na realização dos processos de microfiltração. Mas, principalmente, por ter tornado tudo mais leve desde que chegou! A você minha afeição eterna!

A professora Nancy dos Santos Barbi, pela contribuição, carinho e atenção ao me acompanhar nessa trajetória.

Aos funcionários e amigos queridos que me receberam com carinho no LABCBROM, UFRJ, Claudinha, Ângelo e Sr. Isaías, por toda a paciência, todo o carinho, todo incentivo, apoio, ajuda e amizade.

A professora e amiga Rita Barros, pelo apoio incondicional, carinho e principalmente pelos conselhos preciosos, a quem dedico profundo respeito e gratidão.

A amiga Daniela Viana, que me recebeu de coração e braços abertos, com sua sinceridade peculiar e sua alma alegre. Pessoa que eu quero sempre presente em minha vida, com quem aprendi a aproveitar melhor a vida e todos os momentos para evoluir sempre. Agradeço de todo coração a amizade, o carinho e o apoio.

Ao pesquisador José Luiz Viana de Carvalho, da Embrapa Agroindústria de Alimentos, pelo apoio e colaboração constante.

Ao professor Ronoel Luiz de Oliveira Godoy, da Embrapa Agroindústria de Alimentos, por ter contribuído para o meu aprendizado sobre carotenoides e me permitido realizar as análises em seu laboratório.

Ao Sidney Pacheco, da Embrapa Agroindústria de Alimentos, pelos ensinamentos, dicas, colaboração, dedicação, paciência e a disposição constante! A você minha eterna gratidão!

Ao Pedro Henrique, pelo treinamento, colaboração e amizade.

A Suellen Gomes pela colaboração nas análises de cromatografia.

A Jeane Rosa e Manuela Santiago, da Embrapa Agroindústria de Alimentos pela atenção, carinho, ensinamentos e colaboração em cromatografia.

A amiga Ediane Ribeiro, pelo carinho, amizade e pelos momentos compartilhados, as conversas que me apresentaram a uma nova visão de mundo, a abertura das portas da sua casa e do seu coração a mim. A você meu carinho mais terno.

A amiga Elenilda de Jesus Pereira, por ser essa maravilha de pessoa que tanto admiro e amo, pelo respeito, consideração, por ter sempre nos lábios palavras animadoras e reconfortantes, pelo PRIVILÉGIO de me conceder sua amizade!

Ao amigo Nicolas, pelo carinho, incentivo e amizade sinceros!

Aos queridos Paula Bastos, Osman Feitosa, Rafaela Rainho e Roberto Figueiredo pelo apoio e contribuição ao longo dessa jornada.

Ao professor Marco Miguel, do Instituto de Microbiologia Professor Paulo de Góes e a professora Helena Keiko Toma da Faculdade de Farmácia, UFRJ, pela contribuição nas análises de microbiologia.

Ao meu tio Carlos Coelho de Carvalho Neto pelos conselhos e considerações técnicas e pessoais que tanto contribuíram para o meu desenvolvimento ao longo deste tempo.

A professora Ana Vieira, pelo empenho e contribuição na conclusão deste trabalho e pelo carinho, sorrisos e momentos engraçados compartilhados.

Aos amigos Verônica Figueiredo, Ana Dutra, Mônica Vanessa, Luciana Jaeger, Lara Smiderle, Ana Cristina e também as queridas Maria Cristina, Débora, Marcelle Globa, Juliana Alves, Isabella Nogueira, Sâmara da Cunha pelo apoio, carinho, incentivo e torcida.

Aos queridos funcionários da Farmácia Universitária da UFRJ: Carlinho, Prof.º João, Cleonice, Jocler, Glaucia, Maria Amélia, Patricia, Alessandra, dona Zezé e Enoch. Assim como aos amigos Luiz, da Faculdade de Odontologia e Paulo, da UFRJ, pelo carinho, incentivo e torcida.

A direção e coordenação da Pós-Graduação da Faculdade de Farmácia da UFRJ e aos funcionários Thiago, Marcelo e Carlos pela disposição em ajudar.

A todos os meus familiares e amigos, em especial a Priscila Barros, Aline Correa, Dany Valério, Shaja Meira, Isabela, Elaine, Novato, Samuel, Bruno, Geanine e Luiz por entenderem minhas ausências e pelo incentivo. Vocês tornam minha vida melhor, sempre, AMO todos vocês!

A todos os professores que passaram por minha vida e contribuíram para o meu aprendizado, em especial a professora Simone Vieira Rosa, Edna Ribeiro dos Santos e ao querido amigo André Nascimento, eternos incentivadores!

A FAPERJ pelo fomento concedido ao projeto de pesquisa “Avaliação Global do Fruto da Cagaiteira (*Eugenia dysenterica* DC), Obtenção de Bebidas Clarificadas por Processos com Membranas e Conservas”, coordenado pela Prof.^a Lucia Maria Jaeger de Carvalho.

A CAPES e ao CNPq pelas bolsas de mestrado e apoio técnico, concedidas.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Mapa representativo dos biomas do Brasil (FONTE: IBGE, 2012a)	27
Figura 2. Cagaiteira (<i>Eugenia dysenterica</i> DC): A – Adulta; B – Tronco; C - Detalhes do tronco e casca (FONTE: TATAGIBA, 2012).	30
Figura 3. Flor da cagaiteira (<i>Eugenia dysenterica</i> DC): A – Ilustração da flor de cagaita; B – Inflorescência em ramo; C – Folhas de cagaita (FONTE: LORENZI, 2002).....	30
Figura 4. Fruto da cagaiteira (<i>Eugenia dysenterica</i> DC): A – Fruto de vez; B – Fruto verde; C – Fruto maduro; D – Fruto com semente (FONTE: TATAGIBA, 2012; STOLFI, 2012).....	31
Figura 5. Distribuição da Cagaiteira pelo bioma do Cerrado (FONTE: CHAVES e TELLES, 2006).	32
Figura 6. Estruturas químicas dos carotenoides de acordo com a sua classificação: Acíclicos, Monocíclicos, Bicíclicos e Oxigenados (Hidroxicarotenoides, Epoxicarotenoides e Cetoxicarotenoides) (FONTE: PACHECO, 2012).....	38
Figura 7. Comparação dos espectros de absorção UV/Vis: A) Similaridade entre os espectros do β -caroteno, β -criptoxantina e zeaxantina comprova que os grupos OH não alteram o cromóforo significativamente; B) Espectros da isomerização <i>cis</i> (9 e 13) do β -caroteno. (FONTE: PACHECO, 2009).....	40
Figura 8. Fluxograma da biossíntese de carotenoides (FONTE: VALDUGA <i>et al.</i> , 2009). ...	42
Figura 9. Formação de compostos aromáticos a partir de carotenoides: A - Esquema geral de formação de compostos aromáticos por clivagem de carotenóides; B – Formação de β -ionona a partir do β -caroteno (Adaptado de: UENOJO, JUNIOR e PASTORE, 2007).	49
Figura 10. Estrutura química dos carotenoides considerados importantes para a saúde humana (FONTE: Adaptado de RODRIGUEZ-AMAYA e KIMURA, 2004).....	51
Figura 11. Representação do olho humano e localização da fóvea central e mácula lútea (FONTE: RHCASTILHOS, 2012)	56
Figura 12. Espectros de absorção da luteína, zeaxantina e do olho humano. (FONTE: PACHECO, 2009).....	57
Figura 13. Diferenças entre a filtração perpendicular e a filtração tangencial (FONTE: Adaptado de CHERYAN, 1998).	64
Figura 14. Processos com membranas: utilização e faixa de pressão. (FONTE: Adaptado de SIEGIRST e JOSS, 2004).	65

Figura 15. Configuração dos sistemas de filtração por membrana: A – Quadro e placas; B – Tubular; C – Fibra oca; D – Espiral (FONTE: CARVALHO, 2008).....	68
Figura 16. Fluxograma de produção de polpa de cagaita.....	73
Figura 17. Foto do Sistema PROTOSEP IV da KOCH <i>Industries</i> de filtração por membranas.	76
Figura 18. Curvas de calibração dos sete carotenoides e respectivos coeficientes de determinação (r^2) e equação das retas (FONTE: PACHECO, 2009).....	84
Figura 19. Perfil cromatográfico e espectros obtidos da mistura multipadrões (PACHECO, 2009).	85
Figura 20. Polpas de cagaita (<i>Eugenia dysenterica</i> DC): A – Integral; B – Concentrada (retentado) e C – Clarificada.	94
Figura 21. Cromatograma da polpa de cagaita (<i>Eugenia dysenterica</i> DC) extraída sem a etapa de saponificação.....	108
Figura 22. Cromatograma da polpa de cagaita extraída e saponificada.....	110
Figura 23. Cromatograma contendo os carotenoides encontrados no retentado remanescente do processo de MF da polpa integral de cagaita.....	114

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Permeabilidade hidráulica da membrana PES 0,3 μm em diferentes pressões.....	87
Gráfico 2. Comportamento do fluxo em função do tempo no processo de clarificação da polpa de cagaita.	89
Gráfico 3. Tamanho de partículas da polpa de cagaita (<i>Eugenia dysenterica</i> DC).	93

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Formas de aproveitamento e utilização da cagaiteira (<i>Eugenia dysenterica</i> DC)...	33
Quadro 2. Composição média dos frutos de cagaita (<i>Eugenia dysenterica</i> DC).	34
Quadro 3. Principais perfis de carotenoides encontrados em frutas e hortaliças frutos.....	44
Quadro 4. Perfil qualitativo e quantitativo de carotenoides de algumas frutas brasileiras.	46
Quadro 5. Estudos que relacionam carotenoides ao crescimento de células tumorais.	54
Quadro 6. Efeitos dos carotenoides em doenças cardiovasculares.	55
Quadro 7. Diferenças entre as principais membranas utilizadas em processos de MF (SUTHERLAND e FREE, 1991; ZANINI, 1994; CHERYAN, 1998).	69
Quadro 8. Composição do gradiente da fase móvel utilizada nas análises.	81
Quadro 9. Padrões isolados de carotenoides	81
Quadro 10. Valores de solventes, comprimento de onda e absorvidade molar adequados para quantificação dos carotenoides (RODRIGUEZ-AMAYA, 2001).....	82
Quadro 11. Volumes das alíquotas da mistura multipadrão e concentração final dos pontos da curva de calibração (PACHECO, 2009).	83

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Carotenoides totais da polpa de cagaita (<i>Eugenia dysenterica</i> DC).....	74
Tabela 2. Fluxo hidráulico da membrana tubular de PES (0,3 µm) nas diferentes pressões aplicadas.	87
Tabela 3. Qualidade microbiológica das polpas integral, concentrada e clarificada de cagaita.	95
Tabela 4. pH e sólidos solúveis das polpas de cagaita integral, clarificada e concentrada, por MF.....	97
Tabela 5. Composição centesimal aproximada das polpas de cagaita integral, concentrada e clarificada por MF (g/100 g).	100
Tabela 6. Carotenoides totais, α-caroteno, β-caroteno e isômeros, β-criptoxantina, luteína e zeaxantina (µg/g) da polpa de cagaita de acordo com o método de extração.	104
Tabela 7. Teores de carotenoides e isômeros (µg/g) das polpas de cagaita integral e concentrada e do suco clarificado.	113

LISTA DE SIGLAS, ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

Col.:	colaboradores
DLC:	duplas ligações conjugadas
Acetil-CoA:	acetil-coenzima A
IBGE:	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
km ² :	Quilômetro quadrado
mm:	milímetro
°Brix:	graus Brix ou sólidos solúveis
µg:	micrograma
kcal:	quilocaloria
C ₄₀ :	quarenta átomos de carbono
C ₂₀ :	vinte átomos de carbono
H ₅₆ :	cinquenta e seis átomos de hidrogênio
nm:	nanômetro
ζ-caroteno:	zetacaroteno
γ-caroteno:	gamacaroteno
δ-caroteno:	deltacaroteno
C=C:	dupla ligação de dois átomos de carbono
GGPP:	geranilgeranilpirofosfato
IPP:	isopentilpirofosfato
¹ O ₂ :	oxigênio singlete ativo
β-ionona:	betaionona
CAR:	carotenoides
³ O ₂ :	oxigênio triplete
³ CAR:	carotenoide triplete excitado
R [•] :	radical livre
CAR(H):	carotenoide com um átomo de hidrogênio ativo
RH:	ácido graxo insaturado
O ₂ :	oxigênio
RO ₂ :	peróxido
α-tocoferol:	alfa-tocoferol
DNA:	ácido desoxirribonucleico
IDR:	ingestão diária recomendada
Da:	daltons
s/:	sem
LDL:	lipoproteínas de baixa densidade
CLAE:	cromatografia líquida de alta eficiência

CCA: cromatografia de coluna aberta
UV/vis: ultravioleta visível
DAD: detector de arranjo de diodo
MTBE: eter metil *tert* butílico
MF: microfiltração
UF: ultrafiltração
NF: nanofiltração
PV: pervaporação
OR: osmose reversa
Psi: Psi (pound force per square inch) ou libra força por polegada quadrada
Å: ångström
kDa: kilodalton
PS: polissulfona
PES: polietersulfona
PVDF: fluoreto de polivinilideno
MWC: massa molecular de corte
cut off:: massa molecular de corte
AC: acetato de celulose
ppm; parte por milhão
PVC: policloreto de vinila
rpm: rotação por minuto
RDC: resolução da diretoria colegiada
CPP: contagem padrão em placas
µl: microlitro
p/v: parte por volume
BHT: butil-hidroxi-tolueno
UFC: unidade formadora de colônia
DP: desvio padrão
Nd: não detectado

RESUMO

A cagaita (*Eugenia dysenterica* DC) é um fruto nativo do Cerrado, pertencente à família Myrtaceae. Sua produção se destina ao consumo *in natura* pela população local e produção de diversos produtos alimentícios, sucos e polpas congeladas. Embora sejam pouco calóricos, os frutos apresentam grande potencial econômico, devido as suas características físicas, químicas e nutricionais, além do aroma e sabor agradáveis. Entretanto, seu perfil de carotenoides ainda é pouco conhecido. Os carotenoides são pigmentos muito difundidos na natureza. Possuem extrema importância para a saúde humana, mas são moléculas altamente instáveis quando expostas principalmente à luz, ao oxigênio e ao aquecimento. A microfiltração (MF) é um processo que utiliza membranas semipermeáveis tendo a pressão como força motriz, se destinando à obtenção de sucos de frutas microbiologicamente estéreis, que preservam as substâncias termossensíveis. O objetivo desse estudo foi identificar os carotenoides presentes na polpa de cagaita oriunda da cidade de Damianópolis (GO), caracterizar a polpa quanto a sua composição química e física em relação à umidade, cinzas, proteínas, lipídios, sólidos solúveis, pH e tamanho de partículas, determinar as perdas pós processo e determinar a esterilidade comercial do suco clarificado. Para identificação dos carotenoides as amostras foram submetidas à etapa de saponificação e, subsequentemente, a CLAE com método gradiente de eluição, em coluna C₃₀ de fase reversa, fase móvel composta por metanol e éter metil terc-butílico. A quantificação foi realizada em cromatógrafo com detector Waters 996, rede de diodo UV/Vis na faixa de 350 a 600 nm. A polpa foi processada por MF com membrana tubular de polietersulfona com 0,3 µm de diâmetro de poro, área total de permeação de 0,05m², a 2,0 Bar. A luteína, zeaxantina, β-criptoxantina, β-caroteno e α-caroteno foram os carotenoides identificados na polpa de cagaita, além dos isômeros 9 e 13-cis- β-caroteno. O β-caroteno foi o carotenoide majoritário, seguido da β-criptoxantina e, o minoritário, o α-caroteno. O fluxo médio obtido foi de 20,15 L/m².h, a vazão de 2,01 L/m².h, 43% de rendimento, com tempo de processo de 110 minutos. Todos os carotenoides ficaram retidos na polpa concentrada, não sendo identificados na polpa clarificada. A qualidade química e microbiológica da polpa clarificada encontrava-se de acordo com a legislação brasileira vigente.

ABSTRACT

Cagaita (*Eugenia dysenterica* DC) is a native fruit of Cerrado, which belongs to the Myrtaceae family. Its production is destined for fresh consumption by the local population, as well as to obtain various food products and frozen pulps. Although it is a low-calorie fruit, it has great economic potential due to its physical, chemical and nutritional characteristics, as well as to its aroma and pleasant taste. However, the profile of carotenoids of this fruit is still unknown. Carotenoids are the most widespread pigments in nature, are extremely important for human health, but are highly unstable molecules especially when exposed to light, oxygen and heat. Microfiltration (MF) is a process that uses semipermeable membranes with pressure as the driving force, which is aimed to obtain microbiologically sterile fruit juices, preserving thermosensitive compounds. The aim of this study was to identify the carotenoids present in the pulp of cagaita from the city of Damianópolis (GO), to characterize the pulp and its chemical and physical composition in relation to moisture, ash, proteins, lipids, soluble solids, pH and particle sizes; to determine the losses in the clarified pulp after MF process and to determine the commercial sterility of the clarified juice. For the identification of carotenoids, samples were previously saponified and subsequently analyzed by HPLC, using a C₃₀ reverse phase column and mobile phase composed by methanol and methyl tert-butyl ether. Quantification was performed using a Waters 996 diode network UV / Vis detector in the 350-600 nm range. The pulp was processed by MF, using a tubular polyethersulfone membrane with 0.3 mm of pore diameter, total area of 0.05 m² and pressure of 2.0 Bar. Lutein, zeaxanthin, β-cryptoxanthin, β-carotene and α-carotene were identified in the cagaita pulp, as well as 9:13 cis-β-carotene isomers. β-carotene was the most abundant followed by β-cryptoxanthin, and α-carotene was the less abundant carotenoid in the pulp. The mean permeate flux was 20.15 L/m².h, with flow rate of 2.01 L/m².h, yield of 43% and processing time of 110 minutes. All carotenoids were retained in the concentrated pulp (retentate) and none were detected in the clarified juice. Chemical and microbiological quality of the clarified pulp was found to be in accordance with the Brazilian legislation.

SUMÁRIO

1. Introdução	23
1.1. O Cerrado	26
1.2. A Cagaita (<i>Eugenia dysenterica</i> DC)	28
1.2.1. Descrição botânica, fenologia e ocorrência.....	29
1.3. Carotenoides	36
1.3.1. Histórico	36
1.3.2. Estruturas químicas dos carotenoides	37
1.3.2.1. Sistema cromóforo dos carotenoides.....	39
1.3.2.2. Isomerização	40
1.3.2.3. Síntese e biossíntese de carotenoides	41
1.3.3. Fontes vegetais e fatores que afetam a composição de carotenoides em vegetais.....	43
1.3.4. Funções dos carotenoides.....	48
1.3.4.1. Funções dos carotenoides nos vegetais	48
1.3.4.2. Funções dos carotenoides nos animais	50
1.3.4.3. Funções dos carotenoides em humanos.....	50
1.3.4.3.1. Como antioxidantes	51
1.3.4.3.2. Na resposta inflamatória	53
1.3.4.3.3. Na prevenção do câncer e atividade celular	53
1.3.4.3.4. Na prevenção de doenças cardiovasculares	55
1.3.4.3.5. Na proteção macular e visão	55
1.3.4.3.6. Como pró-vitamina A	58
1.3.5. Métodos de análise de carotenoides.....	59
1.3.6. Efeitos do processamento e estocagem na composição de carotenoides	61
1.4. Microfiltração	63
1.5. Tipos de membranas	66
2. Objetivos:.....	72
2.1. Geral:.....	72
2.2. Específicos:.....	72

3.	Material e Métodos:	72
3.1.	Matéria-Prima:	72
3.2.	Delineamento dos experimentos:	73
3.3.	Composição centesimal das polpas:	74
3.3.1.	Proteínas	74
3.3.2.	Umidade	74
3.3.3.	Lipídios	74
3.3.4.	Cinzas	75
3.3.5.	Carboidratos	75
3.4.	Sólidos Solúveis:	75
3.5.	pH:	75
3.6.	Análise do Tamanho de Partículas:	75
3.7.	Microfiltração e clarificação das polpas:	75
3.7.1.	Limpeza do sistema de membranas:	76
3.7.2.	Permeabilidade hidráulica da membrana:	77
3.8.	Análises microbiológicas:	77
3.9.	Carotenoides totais após extração por solventes:	78
3.10.	Carotenoides totais após a saponificação a frio:	79
3.11.	Sistema cromatográfico	80
3.11.1.	Condições cromatográficas	80
3.11.2.	Padrão mix de carotenoides	81
3.11.3.	Curva de calibração	82
3.11.4.	Identificação e quantificação dos carotenoides da polpa de cagaita	85
3.12	Avaliação dos Resultados:	86
4.	Resultados e Discussão:	86
4.1.	Condições de processo de MF de polpa de cagaita	86
4.1.1.	Permeabilidade hidráulica da membrana	86
4.1.2.	Rendimento e fluxo do processo de MF da polpa de cagaita integral	88
4.1.3.	Tamanho de partículas da polpa integral de cagaita:	92
4.2.	Microbiologia	95
4.3.	pH, sólidos solúveis (°Brix) das polpas de cagaita integral, concentrada e clarificada por MF	97

4.4. Composição centesimal aproximada das polpas de cagaita integral, concentrada clarificada por MF.....	100
Tabela 5. Composição centesimal aproximada das polpas de cagaita integral, concentrada e clarificada por MF (g/100 g).....	100
4.5 Identificação e quantificação dos carotenoides das polpas de cagaita integral, concentrada e clarificada por MF.....	103
4.5.1. Carotenoides totais	103
4.5.2. Carotenoides e isômeros identificados	108
5.5.3. Retenção de carotenoides na polpa de cagaita concentrada.....	112
5. Conclusões	116
5. Perspectivas futuras.....	117
6. Referências.....	118

1. Introdução

O Brasil é considerado o país de maior biodiversidade do mundo por possuir, aproximadamente, 30% das espécies de animais e plantas distribuídas em seis grandes biomas: Amazônia, Cerrado, Mata Atlântica, Pampa e Pantanal (SILVA *et al.*, 1994;). Toda essa riqueza inclui uma extensa diversidade de frutos de sabor exótico, o que caracteriza um grande potencial econômico na pesquisa de suas características físicas, químicas, nutricionais e sensoriais (ALVES e FRANCO, 2003).

A flora do Cerrado possui diversas espécies frutíferas com grande potencial de utilização agrícola que são, tradicionalmente, utilizadas pela população local. Neste contexto, insere-se a *Eugenia dysenterica* (DC), popularmente conhecida como cagaita (ROESLER *et al.*, 2007; PARTELLI *et al.*, 2010).

A cagaiteira pertence à família Myrtaceae, que contempla várias espécies produtoras de frutos comestíveis de sabor agradável como a goiaba e a jabuticaba entre outros (CHAVES e TELLES, 2006). A cagaiteira (árvore da cagaita) apresenta utilização quase integral, uma vez que quase todas as partes são aproveitadas (LORENZI, 2002; CHAVES e TELLES, 2006; MARTINOTTO *et al.*, 2008).

Alguns aspectos nutricionais da cagaita já foram estudados por alguns pesquisadores, sendo considerada uma fruta pouco calórica, rica em ácidos graxos essenciais e água, com bons teores de minerais (cálcio e manganês) e vitaminas (B2, C, E), além de possuir sabor e aroma agradáveis (CHAVES e TELLES, 2006; MARTINOTTO *et al.*, 2008; SILVA *et al.*, 2008). Embora pouco difundida, a cagaita apresenta grande potencial comercial por sua utilização em produtos alimentícios que vão de bebidas a sorvete, contudo, a maior parte da produção se destina a extração da polpa e produção de sucos para o comércio regional (SILVA, CHAVES e NAVES, 2001; MARTINOTTO *et al.*, 2008).

Sabe-se que a fruta contém carotenoides, porém os tipos de carotenoides, bem como seus teores, ainda são pouco conhecidos e estudados. Carvalho e colaboradores (2009) investigaram a composição quantitativa total de carotenoides da polpa integral, da polpa comercial e do fruto da cagaiteira produzido na cidade de Damianópolis, Goiás (GO), mas não investigaram sua composição qualitativa. Entretanto, Cardoso e col. (2011) investigaram a composição qualitativa e quantitativa de carotenoides em polpa de cagaita produzida na cidade de Felixlândia, Minas Gerais. Portanto, torna-se imprescindível conhecer a composição qualitativa e quantitativa de carotenoides da cagaita produzida na cidade de Damianópolis,

GO, a fim de que se verifique se as diferenças encontradas se devem à região ou as diferentes condições climáticas de crescimento para a mesma espécie (variedade) ou ambas.

Os carotenoides são compostos amplamente difundidos na natureza, com grande diversidade estrutural e funções variadas (CARDOSO, 1997). Foram descritos pela primeira vez no início do século IX como sendo os pigmentos responsáveis pela coloração do pimentão amarelo e da gema de ovo (PENTEADO, 2003).

Quimicamente, os carotenoides se dividem em hidrocarbonetos (carotenos) e derivados oxigenados (oxicarotenos ou xantofilas), possuem estruturas cíclicas e acíclicas e são compostos por uma longa cadeia de duplas ligações conjugadas (DLC), responsáveis por suas cores. Pertencem à família dos terpenóides e são sintetizados na via de síntese dos isoprenoides, sendo formados a partir da acetil-coenzima A (acetil-CoA). Fungos, bactérias, algas e vegetais são os responsáveis pela biossíntese de carotenoides. Como animais não produzem carotenoides, apenas os modificam e armazenam, dependem da ingestão para obtê-los (PENTEADO, 2003).

Entre os vegetais, as principais fontes de carotenoides de interesse para a saúde humana são as folhas, frutos, tubérculos e grãos. Há variação qualitativa e quantitativa da composição de carotenoides entre os vegetais (PENTEADO, 2003; RODRIGUEZ-AMAYA, KIMURA e AMAYA-FARFAN, 2008).

A relevância dos carotenoides se deve as inúmeras funções que desempenham na natureza e na saúde humana. Em humanos, participam na modulação imunológica, na proteção contra o câncer e doenças cardiovasculares, prevenção de catarata e melhora da acuidade visual, além da reconhecida ação como agentes precursores de vitamina A e atividade antioxidante (RODRIGUEZ-AMAYA e KIMURA, 2004; DAVIES e MORELAND, 2004).

A análise de carotenoides envolve extração, saponificação (quando necessário), e injeção e eluição em coluna cromatográfica pela fase móvel. A metodologia atualmente utilizada para análise de carotenoides é a cromatografia líquida de alta eficiência, embora a confirmação dos achados seja realizada por cromatografia em coluna aberta e espectrofotometria de massas (RODRIGUEZ-AMAYA, KIMURA e AMAYA-FARFAN 2008).

Na etapa de extração, inúmeros solventes miscíveis com a água (para produtos frescos) e imiscíveis (para produtos secos) são utilizados. Entre os principais estão a acetona e o éter de petróleo. Também são variados os solventes utilizados como fase móvel, entretanto,

separações completas têm sido observadas com a combinação de metanol e éter metil-*terc*-butílico. A coluna C₃₀ tem sido utilizada preferencialmente pela qualidade em seletividade e resolução. As dificuldades relacionadas ao custo e qualidade dos padrões analíticos têm contribuído para a utilização de padrões extraídos e isolados de fontes naturais por muitos pesquisadores (MERCADANTE, 1999; SANDER *et al.*, 2000; NUNES e MERCADANTE, 2006).

Vários fatores podem afetar a composição qualitativa e quantitativa de carotenoides em alimentos como a variedade/cultivar, a estação do ano, a parte da planta amostrada, condições de plantio, manuseio pós-colheita, processamento e condições de estocagem. Como os carotenoides são altamente instáveis e oxidáveis, vários fatores podem promover a perda parcial de sua atividade biológica ou a perda total da molécula (PENTEADO, 2003; RODRIGUEZ-AMAYA, KIMURA e AMAYA-FARFAN, 2008).

Assim, tecnologias de processamento, como processos com membranas que minimizam perdas de nutrientes, especialmente dos carotenoides, são essenciais para introdução de produtos a partir da cagaíta no mercado mais amplo, agregando valor à matéria-prima local.

Os processos de produção de sucos de frutas a partir de filtração por membranas já são uma realidade nos mercados nacionais e internacionais, além de produzir sucos com padrão de qualidade microbiológica e sensorial exigidos pelo mercado consumidor, permitindo tanto a utilização do filtrado/permeado pela membrana quanto do que ficou retido na membrana ou retentado. Por não utilizar aumento de temperatura durante o processamento, a técnica minimiza as perdas de nutrientes termossensíveis, como é o caso dos carotenoides. No entanto, o tipo de membrana e seu tamanho de poro, bem como as condições do processo, principalmente, a pressão a ser aplicada, precisam ser otimizados para a matéria-prima a ser utilizada.

1.1. O Cerrado

O IBGE (2012a) conceitua bioma como o conjunto de vida (animal e vegetal) constituído pelo agrupamento de tipos de vegetação adjacentes e identificáveis em escala regional, com condições geoclimáticas similares e história compartilhada de mudanças, que resultam numa diversidade biológica característica. O Brasil possui, aproximadamente, 30% das espécies de plantas e de animais existentes no mundo, distribuídas em seis grandes biomas: Amazônia, Cerrado, Mata Atlântica, Caatinga, Pampa e Pantanal, o que o constitui o país de maior biodiversidade do nosso planeta (SILVA *et al.*, 1994).

O Cerrado, embora pouco estudado, é o segundo maior bioma da América do Sul e também do Brasil. Ocupa neste último uma área aproximada de 2.036.448 km², o que corresponde a 23,92% do território brasileiro, perdendo em extensão territorial somente para a Amazônia (ROESLER *et al.*, 2007; IBGE, 2012a).

Situa-se predominantemente no Distrito Federal, ocupando boa parte dos estados de Goiás (97%), Tocantins (91%), Maranhão (65%), Mato Grosso do Sul (61%), Minas Gerais (57%), e porções do Mato Grosso, Paraná, São Paulo, Bahia, Piauí, Pará e Rondônia. Possui ainda pequena inclusão no Paraguai e na Bolívia (BUSCHBACHER, 2000; IBGE, 2012a) (Figura 1).

O termo “Cerrado” é utilizado para designar o conjunto de ecossistemas (savanas, matas, campos e matas de galeria) que constituem a paisagem natural do Brasil Central e apresentam duas estações bem definidas: invernos secos e verões chuvosos. O período seco ocorre de quatro a sete meses, geralmente de abril a setembro, seguido do período de chuvas, com precipitação média de 1.500 mm anuais, se concentrando de outubro a março. O clima é tropical quente subúmido e as temperaturas médias são consideradas amenas ao longo de todo o ano, situando-se entre 22 °C e 27 °C (KLINK e MACHADO, 2005; PARTELLI *et al.*, 2010; IBGE, 2012b).

Os solos do Cerrado são bem variados e constituídos de mais de uma dezena de classes, considerando suas características morfológicas e físicas. Entretanto, são predominantes os latossolos, tidos como pobres em nutrientes, intemperizados, de baixa capacidade de troca de cátions, elevada acidez e com elevadas concentrações de alumínio (KLINK e MACHADO, 2005; PARTELLI *et al.*, 2010; IBGE, 2012b).

Inúmeras fisionomias estão presentes na vegetação desse bioma, sendo representadas por quatro subgrupos de formação: Florestada, Arborizada, Parque e Gramíneo-Lenhosa. Ainda são descritas formações Savânicas, Campestres, Floresta Estacional, Floresta Estacional Semidecidual e Floresta Estacional Decidual. As plantas vasculares somam mais de 12.000 espécies e estima-se que 44% da flora são representados por plantas da região. Isso representa aproximadamente 30% da biodiversidade brasileira e 5% da mundial, o que constitui o Cerrado como a mais diversificada savana tropical do mundo (KLINK e MACHADO, 2005; PARTELLI *et al.*, 2010; IBGE, 2012b).

Estudos recentes apontam para um número maior na fauna de mamíferos, embora de riqueza relativamente pequena. A avifauna é considerada rica por abranger mais de 830 espécies, embora o endemismo seja baixo (3,4%). O número de peixes, répteis e anfíbios é elevado, sendo muito superior ao das aves. Embora pouco conhecidos, os invertebrados são estimados em torno de 90.000 espécies; outras estimativas dão indícios da presença de 13% de borboletas, 35% de abelhas e 23% de cupins (KLINK e MACHADO, 2005; PARTELLI *et al.*, 2010).



Figura 1. Mapa representativo dos biomas do Brasil (FONTE: IBGE, 2012a)

Apesar de sua riqueza e biodiversidade, o Cerrado tem sido considerado um *hotspot* mundial, pelo elevado risco de extinção, uma vez que pelo menos 137 espécies de animais que ocorrem na região estão ameaçadas. Há ainda estimativas de que 40% do bioma da região tenham sido desmatados nos últimos anos. Isto se deve a duas questões que estão intimamente relacionadas: a grande expansão da agricultura, principalmente o cultivo de soja e de áreas de pastagem, associadas à falta de políticas públicas que garantam a preservação deste bioma. As taxas atuais de desmatamento por ano na região do Cerrado superam as da Amazônia, pois o atual Código Florestal Brasileiro protege apenas 35% da área na região de Cerrado contra 80% na região Amazônica, não havendo previsão de mudanças nestes percentuais dentro da proposta aprovada pelo Senado brasileiro em 2011 (KLINK e MACHADO, 2005; PARTELLI *et al.*, 2010; WWF, 2012).

Inúmeras espécies vegetais nativas da região apresentam utilidade para alimentação e nutrição humana, ecoturismo, além de permitirem o uso medicinal, ornamental, forrageiro, madeireiro, entre outros usos. Os frutos do Cerrado se destacam por apresentarem elevado valor nutricional, incluindo vitaminas e propriedades antioxidantes, sabores peculiares e marcantes, cor atrativa e larga utilidade na produção de outros produtos alimentícios. Embora sejam pouco exploradas comercialmente, algumas espécies possuem potencial para exploração sustentável. Entre elas, encontra-se a Cagaita (*Eugenia dysenterica* DC) (ROESLER *et al.*, 2007; PARTELLI *et al.*, 2010).

1.2. A Cagaita (*Eugenia dysenterica* DC)

Cagaita é o nome popular conferido a *Eugenia dysenterica* DC. Esta árvore frutífera era mais conhecida como *Stenocalyx dysentericus* (DC) Berg, nome empregado na usual *Flora Brasiliensis*. Posteriormente, o gênero *Stenocalyx* Berg foi submergido em *Eugenia* Mich., adotando o binômio *Eugenia dysenterica* DC. Possui como sinonímia botânica o termo *Myrtus dysenterica* Mart (CHAVES e TELLES, 2006). Seu nome (tanto o popular quanto o científico) é uma referência à propriedade laxativa de seu fruto, fato este conhecido da população das regiões em que é cultivada. Esta característica se manifesta, principalmente, no consumo do fruto maduro e em início de fermentação ou quando consumido em excesso. Contudo, relatos atestam que, quando “de vez”, o fruto pode ser consumido em quantidade sem provocar desconforto (MARTINOTTO *et al.*, 2008; CHAVES e TELLES, 2006).

A planta pertence à família *Myrtaceae*, que compreende aproximadamente 3.500 espécies, subordinadas a cerca de 100 gêneros e apresenta dois centros principais de

diversidade, a América tropical e a Austrália. As *Myrtaceae* estão divididas em três tribos: *Myrciinae*, *Eugeniinae* e *Pimentinae* e seis subfamílias. O nome da família é originário do termo grego *myrtos* que significa perfume. A família é representada no Cerrado por 14 gêneros, com 211 espécies e considerada uma das 10 famílias mais representativas desse bioma, contribuindo com cerca de 51% da sua riqueza florística (CHAVES e TELLES, 2006).

A cagaita é pertencente à subfamília *Eugenioideae* e a tribo *Eugeniinae*. Dentro do gênero *Eugenia* encontram-se cerca de 50 espécies, que variam desde ervas até árvores, ocupando, praticamente, todos os tipos fitofisionômicos do Cerrado, contemplando várias espécies produtoras de frutos comestíveis de sabor agradável, como goiaba, jaboticaba, araçá, guabiroba e cambuci, além de apresentar características adequadas ao uso para arborização urbana (CHAVES e TELLES, 2006).

1.2.1. Descrição botânica, fenologia e ocorrência

A cagaiteira é uma árvore frutífera de porte médio, podendo alcançar de 4-10 m de altura com troncos e ramos tortuosos e cilíndricos, de 20-40 cm de diâmetro, copa alongada e densa (Figura 2 - A). A casca é grossa, suberosa, fissurada e sulcada nos sentidos vertical e horizontal (Figura 2 – B e C). Também é considerada uma planta decídua, heliófita e seletiva xerófita. Apresenta flores solitárias (Figura 3 – A), axilares sobre pedúnculos de 1-2 cm de comprimento ou reunidas em fascículos axilares possuindo de 3-6 flores brancas e perfumadas, hermafroditas e completas (Figura 3 - B). Suas folhas são aromáticas, curto-pecioladas, glabras e luzidias na face superior, coriáceas, com nervuras visíveis, de 4-9 cm de comprimento por 3-5 cm de largura (Figura 3 - C) (LORENZI, 2002; MARTINOTTO *et al*, 2008).

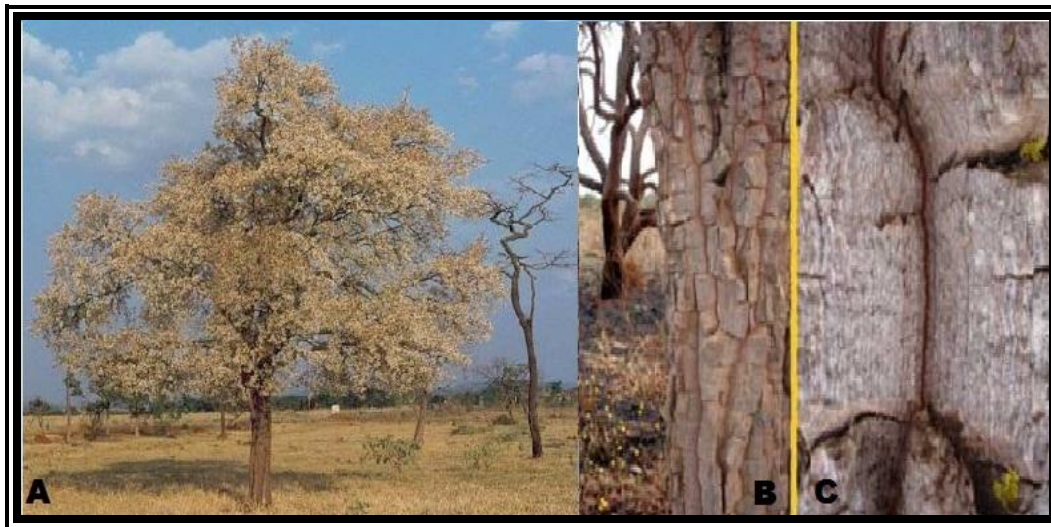


Figura 2. Cagaiteira (*Eugenia dysenterica* DC): **A** – Adulta; **B** – Tronco; **C** - Detalhes do tronco e casca (FONTE: TATAGIBA, 2012).

A exuberante floração ocorre durante os meses de agosto e setembro, com duração de até uma semana, comumente sincronizada com o início das primeiras chuvas e, às vezes, antes delas na região de Cerrado (MARTINOTTO *et al*, 2008). A floração geralmente ocorre com a planta totalmente destituída da sua folhagem (LORENZI, 2002). Segundo Martinotto e colaboradores (2008), no período de um mês ocorre o florescimento, produção de nova folhagem e frutificação. A polinização é feita preferencialmente por abelhas, com as flores se abrindo pela manhã e se mantendo abertas por um dia, seguindo um padrão de floração denominado “big bang”, ou seja, com floração muito intensa por um período relativamente curto de tempo (CHAVES e TELLES, 2006; SILVA, CHAVES e NAVES, 2001).



Figura 3. Flor da cagaiteira (*Eugenia dysenterica* DC): **A** – Ilustração da flor de cagaiteira; **B** – Inflorescência em ramo; **C** – Folhas de cagaiteira (FONTE: LORENZI, 2002)

O amadurecimento dos frutos ocorre de outubro a novembro, mas, dependendo do ano e local, pode variar até dezembro (LORENZI, 2002; MARTINOTTO *et al*, 2008). Chaves e Telles (2006) referem o padrão de frutificação da cagaiteira como curto, uma vez que os frutos não permanecem na árvore por mais de 14-16 semanas.

O fruto é uma baga globosa achatada, tomentosa, com polpa amarelo-pálida carnosa, levemente ácida e comestível, medindo de 2-5 cm de diâmetro, com peso entre 14-20 g e comprimento de 3-4 cm, envolvendo de 1-3 sementes (Figura 4 – A, B e C) (SILVA, CHAVES e NAVES, 2001; LORENZI, 2002; MARTINOTTO *et al.*, 2008).

Suas sementes medem 0,8-2,0 cm de diâmetro, possuem coloração creme e formato oval, achatado ou elipsóide (Figura 4 – D). Constituem-se quase totalmente por dois cotilédones: liso (superfície) e coriáceo (tegumento). Um quilo de sementes contém aproximadamente 700-1600 unidades (MARTINOTTO *et al.*, 2008).

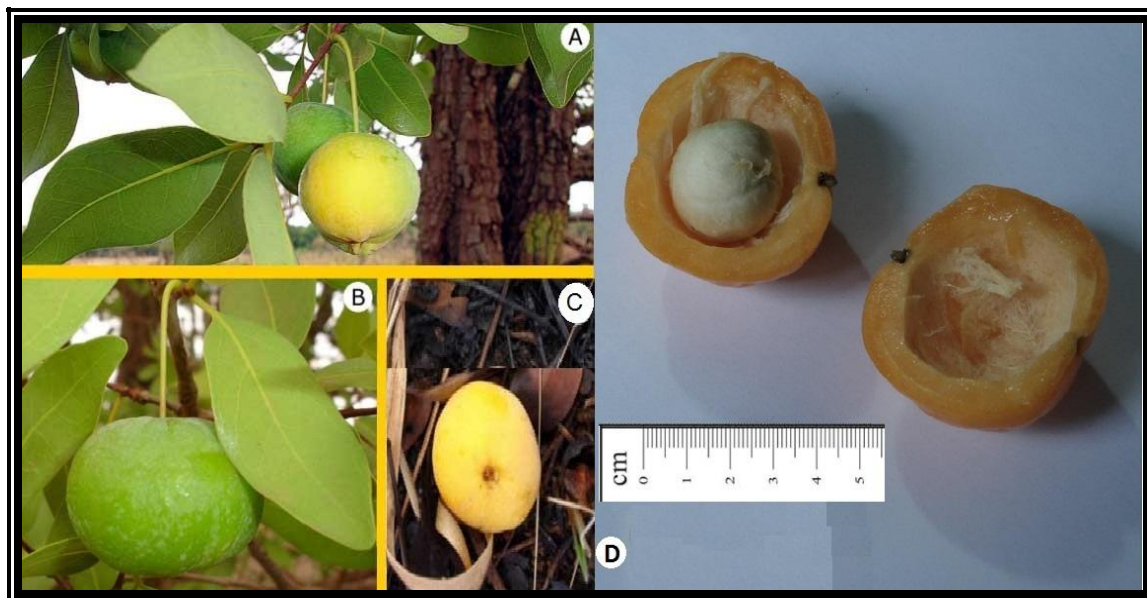


Figura 4. Fruto da cagaiteira (*Eugenia dysenterica* DC): A – Fruto de vez; B – Fruto verde; C – Fruto maduro; D – Fruto com semente (FONTE: TATAGIBA, 2012; STOLFI, 2012).

A cagaiteira apresenta boa adaptação a solos pobres, preferindo formações primárias e capoeirões de terrenos elevados, com solo argiloso ou arenoso bem drenado. Por esta razão é frequentemente encontrada nos estados de Goiás (GO), Minas Gerais (MG), São Paulo (SP), Tocantins (TO), Bahia (BA), Mato Grosso do Sul (MS), no Distrito Federal e em regiões de cerrado e cerradões de altitude (Figura 5) (SILVA, CHAVES e NAVES, 2001; LORENZI, 2002). É exclusiva de cerrados de altitude (acima de 800 m), ocorrendo com maior densidade

nos latossolos vermelho-amarelos e, frequentemente, em áreas com temperaturas médias anuais variando entre 21-25 °C e altitudes de 380-1.100 m, porém com dispersão descontínua e irregular (LORENZI, 2002; MARTINOTTO *et al.*, 2008).

Em estudo realizado por Naves (1999), esta espécie foi encontrada em 10 (20%) das 50 áreas amostrais, cada uma com 1,0 hectare de cerrado do estado de Goiás, e, em uma delas foi registrada a ocorrência de 162 indivíduos com altura acima de 3,0 cm, medido a 10 cm do solo.

A primeira frutificação é observada após quatro anos do plantio, com a época de maturação variando de outubro a dezembro, dependendo do ano e local (MARTINOTTO *et al.*, 2008). A produção de frutos é alta, chegando até mais de 2.000 frutos por árvore (CHAVES e TELLES, 2006).

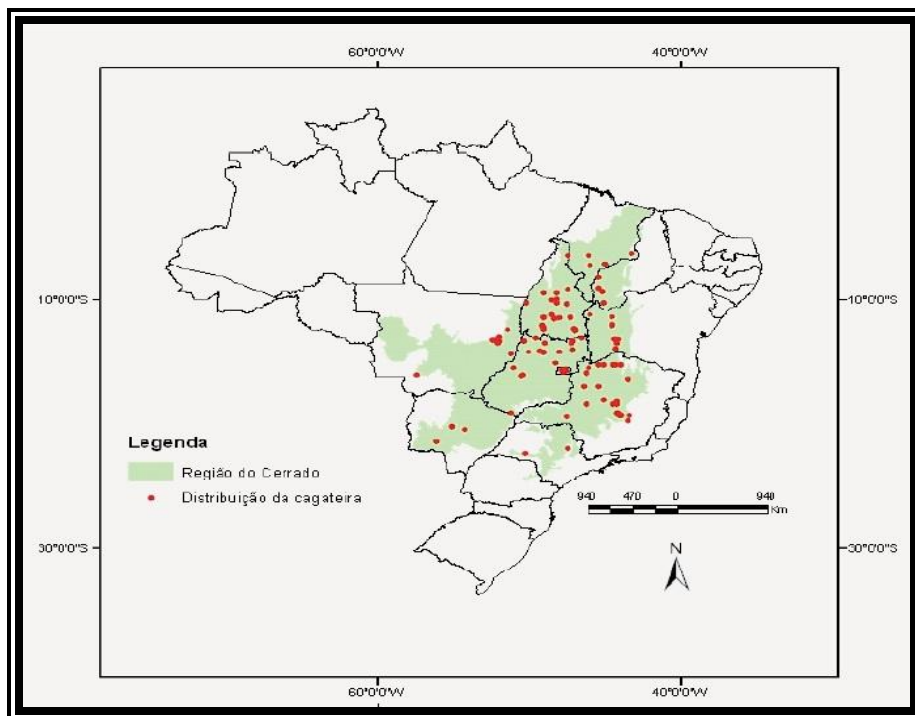


Figura 5. Distribuição da Cagaiteira pelo bioma do Cerrado (FONTE: CHAVES e TELLES, 2006).

A árvore da cagaiteira pode ser utilizada quase que integralmente, o que eleva o seu valor econômico, além do grande potencial para a exploração sustentada (Quadro 1).

Quadro 1. Formas de aproveitamento e utilização da cagaiteira (*Eugenia dysenterica* DC).

Característica	Utilidade	Referência
Árvore	Ornamentação paisagística	MARTINOTTO <i>et al.</i> , 2008
Flores	Apicultura	LORENZI, 2002
Caule	Construção civil, móveis, estrados, lenha e carvão	CHAVES e TELLES, 2006; MARTINOTTO <i>et al.</i> , 2008
Casca	Curtume, antidiarréica	LORENZI, 2002; CHAVES e TELLES, 2006; MARTINOTTO <i>et al.</i> , 2008
Folhas	Pasto arbóreo, antidiarréica, antifúngica, moluscocida e no tratamento de diabetes e icterícia	CHAVES e TELLES, 2006; MARTINOTTO <i>et al.</i> , 2008

O consumo do fruto *in natura* é largamente difundido pela população local, contudo, a cagaita ainda é pouco explorada comercialmente. A comercialização ocorre quase que exclusivamente em mercados regionais como feiras e quiosques, isso porque toda a produção de frutos se dá de forma extrativista, a partir de populações naturais da espécie, não se conhecendo qualquer iniciativa de plantio organizado (CHAVES e TELLES, 2006).

Atualmente, algumas cooperativas de pequeno porte tem se organizado para gerenciamento e aproveitamento da produção e fabricação de polpas e novos produtos, que ocorrem ainda de forma artesanal e pouco comprometida. Pequenas indústrias alimentícias vêm explorando a cagaita como matéria-prima e na fabricação de sorvetes, refrescos e para produção de polpa (MARTINOTTO *et al.*, 2008), porém a produção de polpas é ainda precária quanto a questão organizacional.

Sorvetes e picolés já podem ser encontrados em estabelecimentos especializados em produtos regionais, conforme reportado por Chaves e Telles (2006). Estes mesmos autores mencionam que a polpa de cagaita obtida de frutos verdes vem sendo comercializada na região norte de Minas Gerais, para aproveitamento na merenda escolar na forma de sucos. Entretanto, este comércio ainda é pouco significativo em comparação com outros produtos da flora da região do cerrado, tais como o pequi e a mangaba.

A composição dos frutos indica a possibilidade de sua exploração, tanto para consumo *in natura*, quanto na forma de produtos processados (Quadro 2). A utilização do fruto *in natura* pelas populações locais é relativamente pequena quando comparada com outras espécies frutíferas do cerrado. O efeito laxativo e de embriaguez do fruto maduro e o caráter perecível do fruto são apontados como as principais causas desta pequena utilização. Contudo, esse efeito é observado quando o fruto maduro é consumido em excesso ou quente. Entretanto, a fruta é bastante utilizada no preparo de diversos pratos típicos da região (CHAVES e TELLES, 2006; MARTINOTTO *et al.*, 2008).

Quadro 2. Composição média dos frutos de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC).

Parâmetros	Valores Médios	Referência
Teor de água	95,1%	MARTINOTTO <i>et al.</i> , 2008
Ácido linoleico	10,5%	MARTINOTTO <i>et al.</i> , 2008
Ácido linolênico	11,86%	MARTINOTTO <i>et al.</i> , 2008
Vitamina C	72 mg/100 g	FRANCO, 2003
Vitamina B2	0,4 mg/100 g	CHAVES e TELLES, 2006
Folato	25,74 µg/100 g	CARDOSO <i>et al.</i> , 2011
Cálcio	172,2 mg/100 g	CHAVES e TELLES, 2006
Magnésio	62,9 mg/100 g	SILVA <i>et al.</i> , 2008
Ferro	3,9 mg/100 g	SILVA <i>et al.</i> , 2008
°Brix	8,2	CHAVES e TELLES, 2006
Acidez titulável	0,7	CHAVES e TELLES, 2006
pH	2,89	SILVA, JUNIOR e FERREIRA, 2008
Valor energético total	20-29 kcal/100 g	CARDOSO <i>et al.</i> , 2011; SILVA <i>et al.</i> , 2008
Proteínas	0,82 g/100 g	CARDOSO <i>et al.</i> , 2011; SILVA <i>et al.</i> , 2008
Lipídios	0,57 g/100 g	CARDOSO <i>et al.</i> , 2011; SILVA <i>et al.</i> , 2008
Carboidratos	5,54 g/100 g	CARDOSO <i>et al.</i> , 2011; SILVA <i>et al.</i> , 2008
Fibras	1,51 g/100 g	CARDOSO <i>et al.</i> , 2011; SILVA <i>et al.</i> , 2008

Os frutos verdes ou “de vez”, são utilizados na fabricação de sorvetes, doces, geléias, sucos, licores, vinho e vinagre. Assim, o fruto da cagaiteira destaca-se por suas diversas

aplicações (OLIVEIRA *et al.*, 2011; MARTINOTTO *et al.*, 2008; CHAVES e TELLES, 2006; ZUCCHI, BRONDANI e PINHEIRO, 2003; SOUZA, NAVES e CARNEIRO, 2002).

Sabe-se que os frutos do cerrado apresentam elevados teores de carboidratos, proteínas, sais minerais, ácidos graxos, vitaminas do complexo B e carotenoides (SILVA *et al.*, 2008).

Os frutos maduros são altamente perecíveis, sendo indicado, portanto, utilização imediata. Essa característica constitui o fator mais restritivo quanto à comercialização dos frutos, uma vez que em condições ambientais naturais, os frutos perecem em apenas três dias se conservados a 28 °C. Contudo, podem ser preservados por até 13 dias se armazenados sob refrigeração a 15 °C. Já, a polpa congelada mantém-se em condições de consumo por mais de um ano. Assim, os frutos “de vez” são mais indicados para o transporte e comercialização (CHAVES e TELLES, 2006; MARTINOTTO *et al.*, 2008).

A obtenção da polpa de cagaita é um processo simples e o rendimento dependerá da qualidade do fruto. Há referências da obtenção de rendimento de até 60% de suco centrifugado ou 70% de polpa (MARTINOTTO *et al.*, 2008). Os frutos depois de lavados e higienizados, são colocados em peneira, sobre uma bacia e espremidos, ficando retidas as sementes e as cascas da fruta.

Como visto, a cagaiteira destaca-se por sua larga utilidade e aproveitamento quase integral, inclusive dos seus frutos. Dados quanto à aplicação tecnológica para processamento dos seus frutos ainda são escassos na literatura e muitas vezes inconclusivos, o que torna imprescindível a realização de pesquisas científicas sobre este fruto especificamente, assim como informações sobre os tipos de cultura, tanto convencional quanto orgânica, para a avaliação e formulação de produtos convencionais como sucos e de novos produtos. As aplicações visando um mercado mais abrangente podem favorecer o desenvolvimento das regiões produtoras, com maior agregação de valor a matéria-prima local.

Ribeiro (2011) avaliou a atividade antioxidante *in vitro* do fruto de cagaita com e sem casca por três métodos, encontrando resultados positivos e promissores, principalmente no fruto com casca, associada a compostos fenólicos e vitamina C, analisados pelo autor. Sabe-se que várias substâncias são responsáveis pela atividade antioxidante nos vegetais e muitas já foram identificadas em frutos nativos da região do cerrado brasileiro. Dentre as substâncias que apresentam essa atividade, os carotenoides ocupam lugar de destaque, além de poderem estar associados a outros benefícios a saúde humana.

Dada a grande variedade de espécies nativas deste bioma, alguns frutos ainda não foram estudados quanto a esses compostos, como por exemplo, a cagaita. Considerando a importância para a saúde humana e os resultados promissores do fruto quanto à atividade antioxidante, torna-se imprescindível conhecer o perfil e os teores de carotenoides presentes no fruto.

1.3. Carotenoides

Os carotenoides são um grupo notável de substâncias insaturadas, lipofílicas, amplamente difundidas, com grande diversidade estrutural e funções variadas. São provavelmente os pigmentos de maior ocorrência na natureza, uma vez que são encontrados em microrganismos, plantas e animais. Atualmente, mais de 600 são conhecidos e suas estruturas químicas caracterizadas (CARDOSO, 1997; RODRIGUEZ-AMAYA e KIMURA, 2004; UENOJO, JUNIOR e PASTORE, 2007).

Estima-se que sejam produzidas, comercialmente, cerca de 100 milhões de toneladas ao ano. Por serem naturais e não tóxicos se destacam comercialmente na produção de rações para criadouros de peixes (salmão e truta), crustáceos (camarões e lagostas) e aves (canários). São usados como corantes alimentares não muito caros, uma vez que bastam 3-5 g de β -caroteno para conferir a cor amarelada característica a uma tonelada de margarina. Há ainda descrição de sua importância na formação de compostos responsáveis por aromas que são de interesse das indústrias de fragrâncias e alimentícia. Além da indústria de alimentos, há o interesse incipiente da indústria farmacêutica por suas propriedades nutricionais e funcionais, como precursores de vitamina A e pela atividade antioxidante (CARDOSO, 1997; UENOJO, JUNIOR e PASTORE, 2007).

1.3.1. Histórico

No início do século XIX foi publicado o primeiro manuscrito citando os carotenoides como pigmentos naturais sensíveis, lábeis e lipofílicos do pimentão vermelho, do açafrão e da cenoura (PENTEADO, 2003). Em 1831, Heinrich Wilhelm Ferdinand Wackenroder (1798-1854) conseguiu isolar pela primeira vez essas substâncias da cenoura e as batizou de carotenos, derivando do inglês “carrot” (cenoura). Em 1837, Berzelius batizou os compostos amarelos isolados das folhas como xantofilas, do grego *xanthos* para amarelo e *phyll* para folhas (FRANK *et al.*, 2004). Em 1907 foi estabelecida a fórmula molecular do caroteno e xantofila. Em 1928, foi comprovada a natureza isoprenóica da bixina e da crocetina o que possibilitou a publicação em 1930, na Suíça, da estrutura química correta do licopeno, β -

caroteno, α -caroteno, zeaxantina e luteína pelo russo Paul Karrer e seus colaboradores. No mesmo ano, na Inglaterra, Moore publicou estudo com ratos, em que demonstrava a conversão do caroteno absorvido em vitamina A e seu armazenamento no fígado, sugerindo que o mesmo ocorria em humanos. Em 1931, Karrer e seu grupo estabeleceram a estrutura da vitamina A (retinol). Em 1935, o mesmo grupo de pesquisadores estabeleceu a função da vitamina A na visão (PENTEADO, 2003).

Foi Strain, em 1938, quem usou o termo caroteno para hidrocarbonetos e xantofilas para carotenoides oxigenados, nomenclatura usada atualmente (FRANK *et al.*, 2004). Isler, em 1971, publicou dados sobre isolamento, estruturas, e síntese dos carotenoides (PENTEADO, 2003). A *International Union of Pure and Applied Chemistry* e a *International Union of Biochemistry* estabeleceram em 1974 a nomenclatura oficial dos carotenoides (PACHECO, 2006).

1.3.2. Estruturas químicas dos carotenoides

Os carotenoides se dividem em dois grupos: hidrocarbonetos, compostos somente por moléculas de carbono e hidrogênio (altamente apolares como o licopeno, β -caroteno, α -caroteno) e derivados oxigenados, compostos por funções oxigenadas, como cetonas, éteres, furanóides, hidróxidos, epóxidos, metóxidos, ou ácidos carboxílicos, chamados de xantofilas ou oxicarotenoides (moléculas polares como a luteína, zeaxantina, criptoxantina, luteocromo) (PENTEADO, 2003).

Quimicamente os carotenoides apresentam estruturas (Figura 6) alifáticas ou acíclicas (cadeia aberta) e alicíclicas ou cíclicas (cadeia fechada). Os carotenoides cíclicos ou alicíclicos podem ainda ser monocíclicos (quando há um anel) ou bicíclicos (quando há mais de um anel) (PENTEADO, 2003; PACHECO, 2009).

São membros da família dos terpenoides, compostos basicamente por quarenta átomos de carbono (fórmula molecular $C_{40}H_{56}$). Sua estrutura é isoprenoide, composta de uma longa cadeia central de duplas ligações conjugadas (DLC), que lhes conferem a propriedade de absorção de luz visível em diferentes comprimentos de onda (380-500 nm) e constituem o sistema cromóforo, conferindo cores aos carotenoides (PENTEADO, 2003).

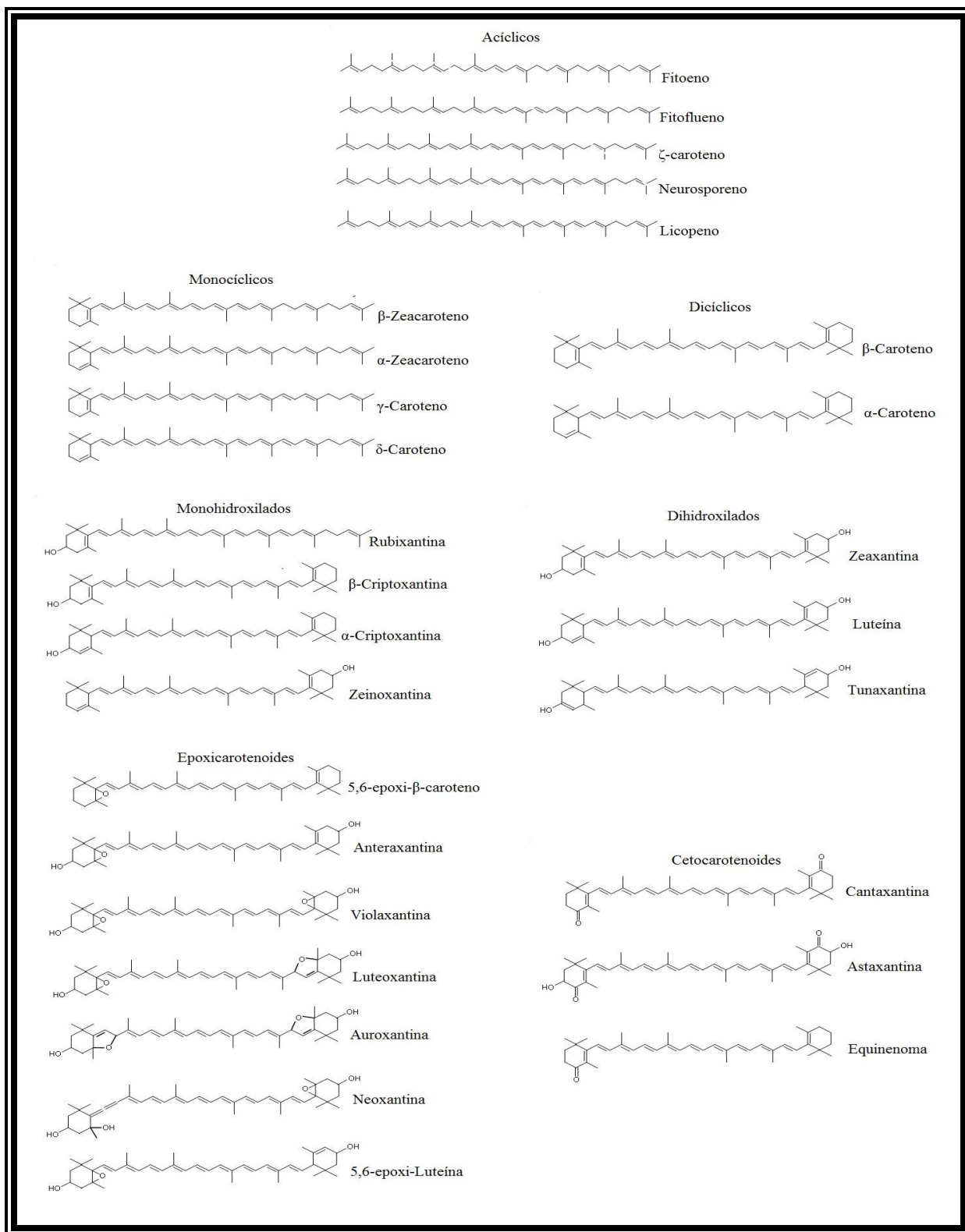


Figura 6. Estruturas químicas dos carotenoides de acordo com a sua classificação: Acíclicos, Monocíclicos, Bicíclicos e Oxigenados (Hidroxicarotenoides, Epoxicarotenoides e Cetoxicarotenoides) (FONTE: PACHECO, 2012).

1.3.2.1. Sistema cromóforo dos carotenoides

A capacidade de absorção de luz é de grande importância por fornecer informações sobre a estrutura das substâncias. Moléculas orgânicas podem absorver luz nas regiões do ultravioleta e do visível e, como consequência, ocorrem transições eletrônicas que resultam na excitação da molécula (estado de maior energia). Nos carotenoides as transições eletrônicas se dão dos orbitais ligantes aos orbitais antiligantes. O deslocamento dos elétrons através das conjugações do cromóforo promove um estado excitado da molécula relativamente de menor energia, de modo que, em geral, a absorção de luz visível é suficiente para promover as transições, produzindo assim, o espectro visível da estrutura química da substância (MELÉNDEZ-MARTÍNEZ *et al.*, 2007).

Assim, quanto maior o número de DLC, menos energia é necessária para a excitação da molécula e, como consequência, o valor do comprimento de onda máximo de absorção é maior. São necessárias no mínimo sete DLC ao carotenoide para a percepção da cor pelo olho humano (1.3.4.3.5., página 43) (MELÉNDEZ-MARTÍNEZ *et al.*, 2007).

Carotenoides acíclicos têm absorção máxima em comprimentos de ondas maiores, enquanto que os carotenoides cíclicos com o mesmo número de DLC tem absorção máxima em comprimentos de ondas menores. Isto se deve as conjugações estendidas ao anel e se explica pela ocorrência de tensões de anel provocadas pelas DLC do anel não estarem coplanares com o restante da cadeia, enquanto que a presença de anéis sem DLC produz pouco efeito sobre o espectro do composto (MELÉNDEZ-MARTÍNEZ *et al.*, 2007).

Nos carotenoides oxigenados, a presença de grupos hidroxila não afeta o cromóforo da molécula desde que não estejam em conjugação com as DLC do restante da cadeia. Isso explica os espectros do β -caroteno, da β -criptoxantina e da zeaxantina serem praticamente idênticos (Figura 7 - A) (MELÉNDEZ-MARTÍNEZ *et al.*, 2007).

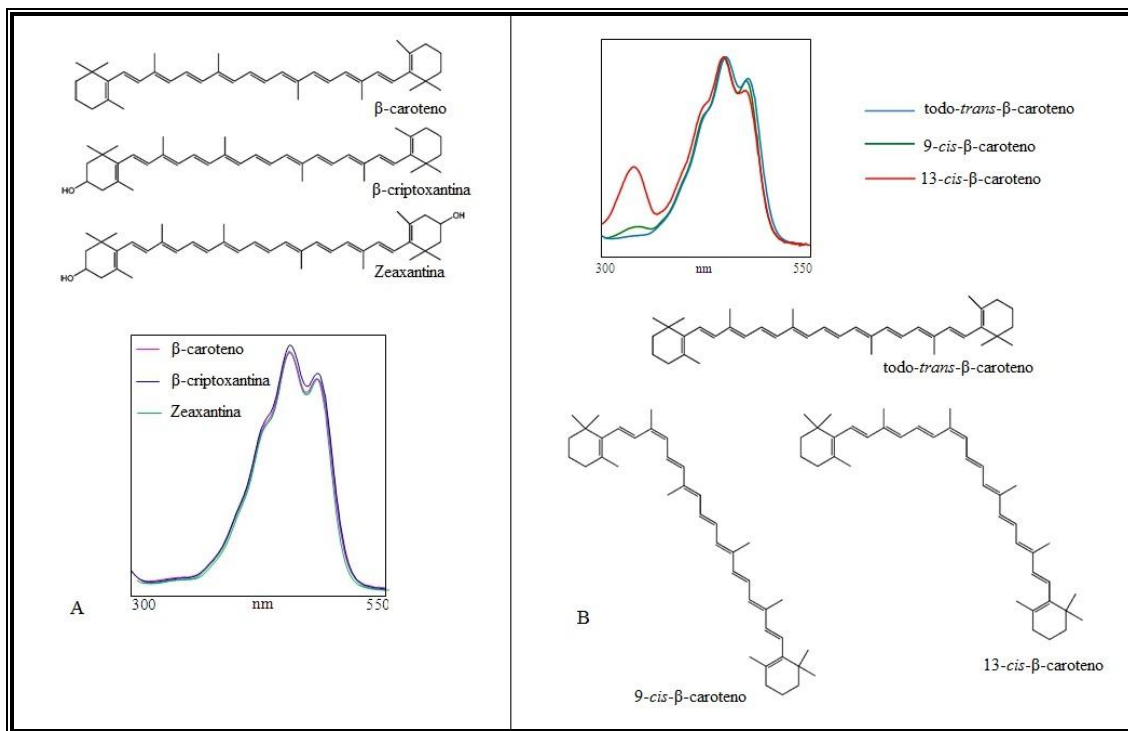


Figura 7. Comparação dos espectros de absorção UV/Vis: **A)** Similaridade entre os espectros do β -caroteno, β -criptoxantina e zeaxantina comprova que os grupos OH não alteram o cromóforo significativamente; **B)** Espectros da isomerização *cis* (9 e 13) do β -caroteno. (FONTE: PACHECO, 2009).

1.3.2.2. Isomerização

A isomerização é uma das propriedades químicas mais conhecidas dos carotenoides. Algumas formas *cis* podem ocorrer naturalmente, como é o caso dos dois primeiros carotenoides na rota biossintética, fitoeno e fitoflueno, que existem predominantemente na configuração 15 *cis*. São poucas as formas *cis* encontradas naturalmente porque a presença da dupla ligação *cis* cria obstáculo estérico entre grupos próximos, tornando a molécula menos estável. Assim, a maioria dos carotenoides existe na natureza na configuração *trans*, que é mais estável termodinamicamente (PENTEADO, 2003).

No caso dos carotenoides, a denominação *trans* ou *cis* é determinada pela disposição dos substituintes da dupla ligação C=C. Assim, se os substituintes estiverem no mesmo lado do eixo C=C, a dupla ligação é chamada de *cis*. Logo, se estiverem em lados opostos, a dupla ligação é chamada de *trans* (PENTEADO, 2003).

O β -caroteno existe naturalmente na forma todo *trans*, que é termodinamicamente mais estável e menos solúvel. No entanto, a ocorrência de isômeros *cis* tem sido relatada com frequência, estimando-se na teoria que existam 272 possíveis isômeros do β -caroteno, sendo

apenas 12 os já detectados. Entre os mais facilmente formados estão o 9 *cis*, o 13 *cis* (Figura 7 B) e o 15 *cis*. No espectro visível, os isômeros *cis* se apresentam como uma nova banda de absorção próxima ou na região ultravioleta. Quanto mais na região central da molécula estiver a isomerização *cis*, mais intenso será o pico (COSTA, ORTEGA-FLORES e PENTEADO, 2001; PENTEADO, 2003).

A maioria dos carotenoides pode sofrer isomerização ou, ainda, serem convertidos em misturas de isômeros geométricos em condições específicas (PENTEADO, 2003). Por esta razão, os isômeros têm sido considerados produtos indesejados produzidos durante o processamento e estocagem de alimentos, exposição à luz, calor, ácidos (pH baixo), oxigênio, enzimas (como as lipoxigenases) e etapas analíticas. Esses mesmos agentes podem produzir a perda parcial ou total dos carotenoides, uma vez que a isomerização *cis* está relacionada à diminuição da cor, perda da atividade pró-vitáminica A e quebra da cadeia (COSTA, ORTEGA-FLORES e PENTEADO, 2002; PENTEADO, 2003).

Contudo, tem sido demonstrado em estudos recentes que os isômeros *cis*, em especial o 9 e o 13 *cis*, apresentam como vantagem a capacidade de se solubilizarem em micelas lipídicas e, assim, permitir maior absorção da forma *trans* do β -caroteno por humanos, favorecendo a biodisponibilidade deste nutriente (COSTA, ORTEGA-FLORES e PENTEADO, 2002; FAILLA, CHITCHUMROONCHOKCHAI e ISHIDA, 2008). Há ainda evidência de que o isômero 9-*cis* seria um antioxidante mais eficiente que a forma todo-*trans* (COSTA, ORTEGA-FLORES e PENTEADO, 2002).

1.3.2.3. Síntese e biossíntese de carotenoides

Os carotenoides são biossintetizados por vegetais, algas, fungos e bactérias. Os animais não sintetizam carotenoides, embora possam modificá-los e armazená-los (PENTEADO, 2003).

Os carotenoides são biossintetizados pela via dos isoprenoides e terpenoides a partir da acetil coenzima A, via ácido mevalônico, em que a primeira etapa da rota exclusiva dos carotenoides é a condensação de duas moléculas C₂₀, geranylgeranylpirofosfato (GGPP), formando o fitoeno, que é o precursor dos carotenoides com quarenta átomos de carbono. Posteriormente, quatro insaturações geram os carotenoides acíclicos, entre eles o fitoflueno e licopeno. O licopeno pode então sofrer ciclização em um ou ambos os lados da cadeia formando os carotenoides monocíclicos (γ -caroteno e δ -caroteno) e dicíclicos (α -caroteno e β -caroteno). As etapas de oxigenação levam a formação de alcoóis, cetonas, epóxidos, além de

outras modificações estruturais como esterificação (Figura 8), que são as etapas finais da biossíntese. Assim, os processos envolvidos a partir do licopeno são: hidrogenação, desidrogenação, ciclização ou oxidação ou ainda uma mistura destes processos (PACHECO, 2009; PENTEADO, 2003).

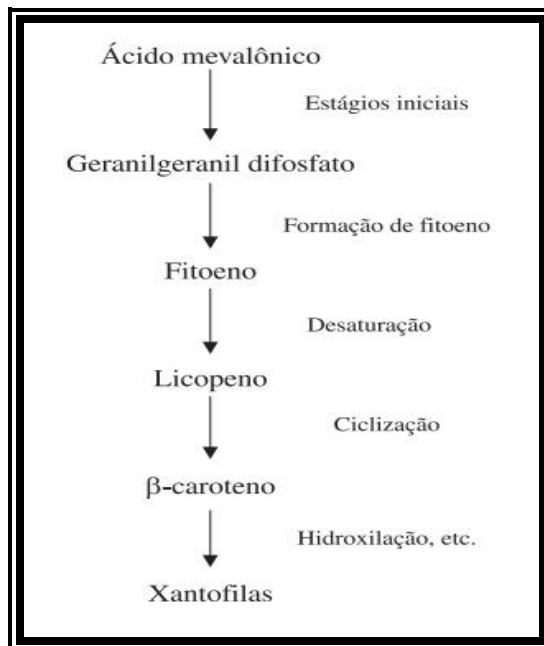


Figura 8. Fluxograma da biossíntese de carotenoides (FONTE: VALDUGA *et al.*, 2009).

A biossíntese de carotenoides por fungos difere da biossíntese por vegetais e bactérias no que se refere à síntese do isopentilpirofosfato (IPP). Nos fungos, a biossíntese de carotenoides é bem estabelecida, enquanto que em vegetais e bactérias nem todas as etapas das reações foram elucidadas. Considerando a amplitude da classe dos carotenoides é compreensível que a biossíntese tome proporções iguais (PENTEADO, 2003; PACHECO, 2009).

Em vegetais a síntese de carotenoides pode ter início junto com a formação do fruto ou folhas, como é o caso dos frutos cítricos e da banana e encontra-se ligada à clorofila. Em frutos maduros são sintetizados simultaneamente com a degradação da clorofila, como é o caso do tomate. Em ambos os casos, a pigmentação que revela a presença de carotenoides torna-se visível após a degradação da clorofila, que ocorre durante a fase de maturação até o período de senescência (KOBLOITZ, 2008; PACHECO, 2009).

1.3.3. Fontes vegetais e fatores que afetam a composição de carotenoides em vegetais

Entre os vegetais, as principais fontes de carotenoides de interesse para a saúde humana são as folhas, frutos, tubérculos e grãos. Também são encontrados em óleos vegetais, como é o caso do azeite de dendê. Os vegetais têm a capacidade de produzir carotenoides continuamente à medida que “amadurecem”. Assim, é possível encontrar pequenas quantidades de precursores e derivados em alguns vegetais, o que proporciona uma composição complexa e variável (PENTEADO, 2003; RODRIGUEZ-AMAYA, KIMURA e AMAYA-FARFAN, 2008).

Há variação qualitativa e quantitativa da composição de carotenoides entre os vegetais. As hortaliças verdes, folhosas ou não, possuem perfil qualitativo definido, sendo a luteína, o β -caroteno, a violaxantina e a neoxantina os principais carotenoides. Podem conter ainda carotenoides minoritários como α -caroteno, α - ou β -criptoxantina, zeaxantina, anteraxantina e luteína-5,6-epóxido. Nelas, a proporção relativa destes carotenoides é razoavelmente constante, mas as concentrações absolutas não. Em vegetais verdes, os carotenoides são encontrados dentro dos cloroplastos e as xantofilas (carotenoides oxigenados) não estão esterificadas (RODRIGUEZ-AMAYA, KIMURA e AMAYA-FARFAN, 2008).

Nos tubérculos e raízes como a cenoura, batata doce e abóbora predominam os carotenos, enquanto os carotenoides oxigenados predominam em grãos como o milho (RODRIGUEZ-AMAYA, KIMURA e AMAYA-FARFAN, 2008).

As hortaliças frutos e as frutas apresentam composição de carotenoides mais complexa e diversificada, com variações consideráveis mesmo entre os carotenoides principais. As frutas contêm poucos carotenoides em altas concentrações e uma série de componentes minoritários em quantidades mais baixas ou em traços. Os principais perfis encontrados em hortaliças frutos e frutas encontram-se no Quadro 3. Nos frutos maduros, os carotenoides estão localizados em cromoplastos e os carotenóis (carotenoides oxigenados) encontram-se, em maioria, esterificados com ácidos graxos (RODRIGUEZ-AMAYA, KIMURA e AMAYA-FARFAN, 2008).

Quadro 3. Principais perfis de carotenoides encontrados em frutas e hortaliças frutos.

Quantidades	Carotenoides e Derivados	Frutas ou Frutos	Referência
Insignificantes	Variados	Pêra	RODRIGUEZ-AMAYA, KIMURA e AMAYA-FARFAN, 2008
Baixo conteúdo	Variados e pigmentos cloroplásticos	Uva	
Expressivas	Licopeno	Tomate, melancia, goiaba vermelha, mamão vermelho	
Predominância de um carotenoide	β -caroteno	Acerola, buriti, tucumã	
	β -criptoxantina	Damasco, pêsego, caqui	
Substanciais	Epóxidos	Manga, carambola	
Predominância	Raros ou específicos da espécie	Pimenta verde	

Vários fatores podem afetar a composição qualitativa e quantitativa de carotenoides em um mesmo alimento. Rodriguez-Amaya, Kimura e Amaya-Farfan (2008) consideram que a variedade/cultivar, a estação do ano, a parte da planta amostrada, condições de plantio, manuseio pós-colheita, processamento e condições de estocagem são responsáveis pelas diferenças da composição de carotenoides em vegetais.

O estado de maturação afeta a composição de carotenoides, uma vez que o processo de amadurecimento é acompanhado por intensa carotenogênese, com aumentos em tipos e quantidades de carotenoides (RODRIGUEZ-AMAYA, KIMURA e AMAYA-FARFAN, 2008). No Quadro 4 pode-se observar a diferença comparando amostras de manga parcialmente maduras com mangas maduras, bem como de pitanga parcialmente madura e madura (MERCADANTE e RODRIGUEZ-AMAYA, 1998; PORCU e RODRIGUEZ-AMAYA, 2008).

O clima e a localização geográfica também influenciam na composição de carotenoides, uma vez que a radiação solar e as temperaturas elevadas promovem aumento na biossíntese de carotenoides. Assim, os carotenoides são responsáveis pela coloração dos frutos tropicais, ao passo que frutas de clima frio são coloridas majoritariamente por

antocianinas (RODRIGUEZ-AMAYA, KIMURA e AMAYA-FARFAN, 2008, DHUIQUE-MAYER *et al.*, 2009). Algumas diferenças podem ser observadas no Quadro 4 .

Quadro 4. Perfil qualitativo e quantitativo de carotenoides de algumas frutas brasileiras.

Descrição	Procedência	N	Carotenoide							Referência
			α -caroteno	β -caroteno	B-criptoxantina	Licopeno	Luteína	Zeaxantina	Violaxantina	
Acerola (<i>Malpighia glabra</i>)	SP	4	Tr	4,0	0,5	-	Nq	-	Nq	CAVALCANTE e RODRIGUEZ-AMAYA, 1992
Acerola	PE	18	0,1	26	3,6	-	Nq	-	Nq	
Acerola	CE	4	Tr	22	2,1	-	Nq	-	Nq	
Acerola, quintal, madura, sem casca	SP	5	0,7	8,8	0,8	-	1,2	-	0,7	PORCU e RODRIGUEZ-AMAYA, 2006
Acerola, polpa, congelada, 4 marcas		17	0,3	11	0,7	-	0,9	-	0,1	
Acerola, suco, garrafa, 3 marcas		13	0,4	7,5	0,9	-	0,5	-	Tr	
Caju, alongado, amarelo	SP	5	0,3	0,5	-	-	0,1	-	-	ASSUMÇÃO e MERCADANTE, 2003 ^a
			-	0,4 (E)	0,1 (E)	-	-	-	-	
Caju alongado, amarelo	PI	5	0,2	0,6	0,6	-	tr	Tr	0,1	
			-	0,5 (E)	0,5 (E)	-	-	-	-	
Caju, redondo vermelho	PI	5	0,1	0,2	0,7	-	tr	Tr	0,1	
			-	0,2 (E)	0,6 (E)	-	tr	Tr	0,1	
Caju, polpa, congelada, frozen, 4 marcas		20	0,3	1,0	0,5	-	tr	-	-	ASSUMÇÃO e MERCADANTE, 2003 ^b
			-	0,8 (E)	0,4 (E)	-	-	-	-	
Caju, suco, concentrado, 5 marcas		25	0,1	0,6	-	-	tr	-	-	
			-	0,5 (E)	0,1 (E)	-	-	-	-	
Manga Keitt, parcialmente madura	SP	3	-	-	TR	-	-	-	15	MERCADANTE e RODRIGUEZ-AMAYA, 1998
			-	4,2 (E)	tr(E)	-	-	0,3 (E)	11 (E)	
Manga Keitt, madura	SP	3	-	-	0,2	-	-	-	25	
			-	6,7 (E)	0,2 (E)	-	-	0,8	18 (E)	
Manga Keitt, madura	BA	3	-	-	0,4	-	-	-	32	MERCADANTE e RODRIGUEZ-
			-	15 (E)	0,3 (E)	-	-	0,8 (E)	21 (E)	

Manga, suco, garrafa, 3 marcas		8	-	8,6	0,2	-	-	-	-	AMAYA, 1998
Pitanga (<i>Eugenia uniflora</i>), parcialmente madura	SP	5	-	-	-	38	-	-	-	PORCU e RODRIGUEZ- AMAYA, 2006
			-	1,4 (E)	7,6 (E)	34 (E)	3,1 (E)	-	3,9 (E)	
Pitanga, parcialmente madura	PR	5	-	-	-	7,4	-	-	-	
			-	1,4 (E)	7,0 (E)	7,0 (E)	2,5 (E)	-	3,0 (E)	
Pitanga, madura	SP	10	-	-	-	76	-	-	-	
			-	3,5 (E)	12 (E)	71 (E)	1,2 (E)	-	2,3 (E)	
Pitanga, madura	PR	5	-	-	-	15	-	-	-	
			-	2,6 (E)	13 (E)	14 (E)	1,7 (E)	-	2,1 (E)	
Pitanga, suco, garrafa, 2 marcas		3	-	-	-	27	-	-	-	
			-	1,7 (E)	8,1 (E)	24 (E)	0,6 (E)	-	-	
Pitanga, polpa, congelada		3	-	-	-	18	-	-	-	
			-	3,8 (E)	12 (E)	17 (E)	1,0 (E)	-	-	

Tr: Traços. Nq: Não quantificado. (E): *trans*.

Manthey e Perkins-Veazie (2009) estudaram cinco cultivares de manga (Tommy Atkins, Haden, Kent, Keitt e Ataulfo) provenientes de quatro países (Brasil, México, Peru e Equador) quanto aos teores de β -caroteno, encontrando diferenças nas concentrações deste caroteno associadas à cultivar, a região de cultivo e período de colheita. Teores mais elevados de β -caroteno foram encontrados na cultivar Ataulfo, produzida no México, enquanto a cultivar Tommy Atkins apresentou os menores teores, especialmente a proveniente do México.

1.3.4. Funções dos carotenoides

Como pigmentos, a presença de um ou a combinação de mais carotenoides, conferem cores que vão do amarelo ao vermelho, às frutas, verduras, raízes, aves, alguns peixes, crustáceos e a certos microrganismos (CARDOSO, 1997; SILVA e MERCADANTE, 2002; UENOJO, JUNIOR e PASTORE, 2007; PACHECO, 2009).

1.3.4.1. Funções dos carotenoides nos vegetais

Nas plantas, descobertas recentes demonstram que os carotenoides atuam como precursores de compostos aromáticos e fragrâncias, essenciais e características a algumas espécies (tabaco, frutas, vegetais), além de atuarem como estabilizadores de membrana, pigmentos fotoprotetores e na fotossíntese (OLIVEIRA, 2006; UENOJO, JUNIOR e PASTORE, 2007).

O papel dos carotenoides na fotossíntese está bem estabelecido. Inicialmente, atuam como antenas auxiliares que absorvem luz em regiões do espectro visível em que a clorofila não absorve com eficiência. Posteriormente, transferem eficientemente a energia singlete-singlete para a clorofila, que então a direciona para o centro da reação (CARDOSO, 1997).

O excesso de luz na planta, comum em regiões tropicais, induz ao estresse por foto-oxidação (da clorofila pela alta radiação) e por foto-inibição (da proteína envolvida na transferência de elétrons no FOTOSISTEMA II), exigindo a ação dos carotenoides como acessórios fotoprotetores (CARDOSO, 1997).

O mecanismo de ação tem por princípio a supressão da excitação e, conseqüente, formação de espécies reativas de oxigênio, geradas por radiação ou inibição da proteína do FOTOSISTEMA II. No primeiro caso, envolve a supressão dos estados triplete da clorofila, via sensibilização, envolvendo transferência da energia triplete da clorofila para o carotenoide, reduzindo a excitação e evitando a formação de oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$) (CARDOSO, 1997).

No segundo caso, a estabilidade do Fotosistema II é restituída pela conversão do carotenoide violaxantina em zeaxantina, que é capaz de suprimir o estado excitado singlete da clorofila. Com isso, a perda da proteína envolvida é restabelecida. Todos esses mecanismos favorecem a manutenção da estabilidade da membrana celular, mas não evitam danos permanentes se a exposição à luz for excessiva e prolongada (CARDOSO, 1997; STREIT *et al.*, 2005).

O excesso de luz pode produzir a degradação dos carotenoides afetando a cor, o valor nutricional e o perfil aromático de óleos essenciais, de frutas, vegetais e produtos de vegetais (tabaco, chá, maracujá, carambola, espinafre, vinhos de uvas Chardonnay, mel, algas comestíveis, açafrão, canela, entre outros). Muitos carotenoides quando degradados servem de precursores desses compostos de aroma por via enzimática ou não enzimática (foto-oxidação, auto-oxidação e degradação térmica) (UENOJO, JUNIOR e PASTORE; 2007).

A formação desses compostos envolve três etapas: clivagem inicial pela dioxigenase; seguida da transformação (reação de redução) enzimática dos produtos da clivagem gerando precursores de aromas (intermediários polares) e conversão (catalizada por ácidos de precursores não voláteis) na forma ativa dos compostos aromáticos. Entre os carotenoides precursores de aromas estão a neoxantina, luteína e o β -caroteno (Figura 9) (UENOJO, JUNIOR e PASTORE; 2007).

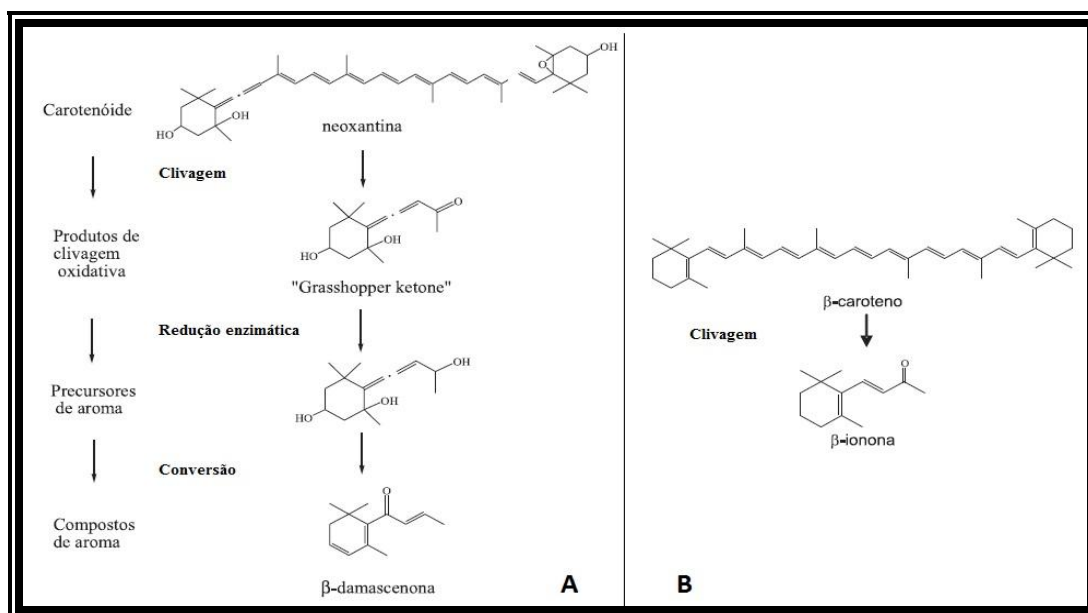


Figura 9. Formação de compostos aromáticos a partir de carotenoides: A - Esquema geral de formação de compostos aromáticos por clivagem de carotenóides; B – Formação de β -ionona a partir do β -caroteno (Adaptado de: UENOJO, JUNIOR e PASTORE, 2007).

1.3.4.2. Funções dos carotenoides nos animais

As cores são extremamente importantes na natureza, em especial as produzidas por carotenoides, pois apresentam funções atrativas, de sinalização e comunicação entre espécies. A coloração dos frutos maduros atrai agentes dispersores de sementes, como pássaros e mamíferos. Para peixes e aves, a coloração é importante na ocasião da corte nupcial, o que garante a perpetuação da espécie, além de servir de sinalização, defesa, mimetismo, entre outras funções. O amarelado característico de algumas carnes de peixe, promovido pelo crescimento de bactérias produtoras de carotenoides, serve como indicador de qualidade do produto (PACHECO, 2009).

Os animais não os sintetizam e dependem da alimentação para obtê-los. Após a absorção, os carotenoides são convertidos em vitamina A e armazenados nos tecidos ou levemente modificados, formando carotenoides típicos de animais, como é o caso da astaxantina (UENOJO, JUNIOR e PASTORE, 2007; RODRIGUEZ-AMAYA, KIMURA e RODRIGUEZ-FARFAN, 2008; PACHECO, 2009).

1.3.4.3. Funções dos carotenoides em humanos

Em humanos, diversas funções são atribuídas aos carotenoides. A mais conhecida é a capacidade de conversão em retinóis (provitamina A). Atuam também em processos celulares, modulam a resposta inflamatória, agem na proteção contra o câncer, prevenção de doenças cardiovasculares, como pigmentos maculares dos olhos, prevenção de catarata e, ainda, como antioxidantes. O licopeno, o β -caroteno, o α -caroteno, a luteína, a β -criptoxantina e a zeaxantina são os principais carotenoides envolvidos na saúde humana e podem, portanto, ser encontrados no plasma sanguíneo (Figura 10). Destes, quase todos são facilmente encontrados nos alimentos, com exceção da zeaxantina, enquanto que o β -caroteno é o mais amplamente distribuído (SILVA e MERCADANTE, 2002; PENTEADO, 2003; RODRIGUEZ-AMAYA e KIMURA, 2004).

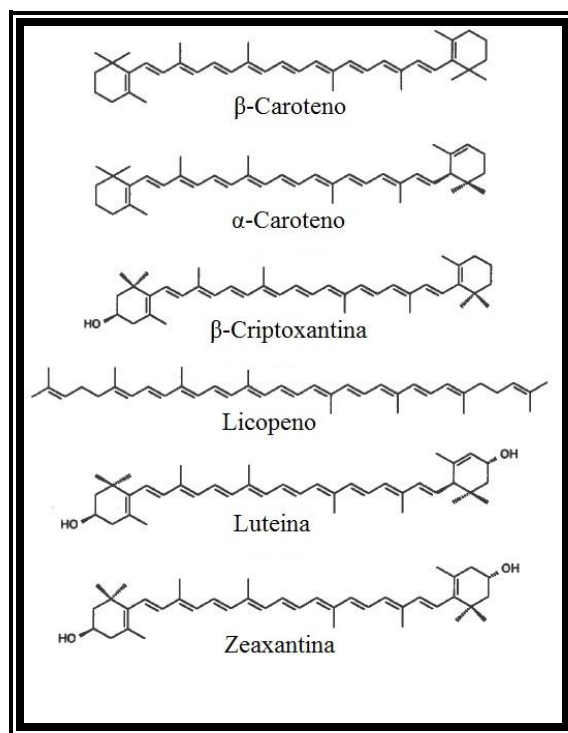
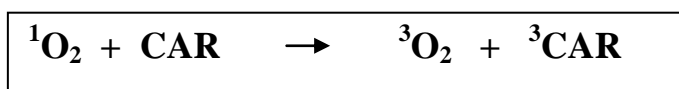


Figura 10. Estrutura química dos carotenoides considerados importantes para a saúde humana (FONTE: Adaptado de RODRIGUEZ-AMAYA e KIMURA, 2004).

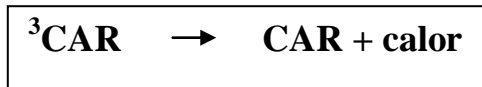
1.3.4.3.1. Como antioxidantes

Em sistemas biológicos, diversas reações podem resultar em formação de espécies reativas de oxigênio que danificam o DNA. O efeito protetor dos carotenoides contra algumas doenças está intimamente relacionado à sua capacidade antioxidante isolada ou de ação sinérgica com outras substâncias (vitaminas C e E) (UENOJO, JUNIOR e PASTORE, 2007).

O mecanismo de ação antioxidante dos carotenoides difere das classes dos antioxidantes convencionais já conhecidos e existem vários mecanismos de ação propostos (KRINSKY e JOHNSON, 2005). A explicação mais aceitável consiste na sua habilidade de sequestrar ou inativar o $^1\text{O}_2$ (oxigênio singlete ativo) por uma reação que envolve transferência de elétrons entre o oxigênio e o carotenoide, conforme exemplificado abaixo (CARDOSO, 1997; KRINSKY e JOHNSON, 2005; UENOJO, JUNIOR e PASTORE, 2007):

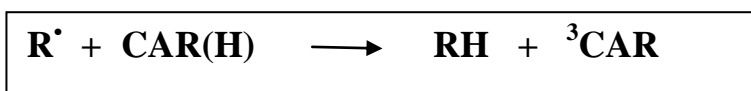


O carotenoide no estado excitado formado pode voltar ao estado inicial, facilmente, dissipando energia na forma de calor (CARDOSO, 1997; KRINSKY e JOHNSON, 2005; UENOJO, JUNIOR e PASTORE, 2007):

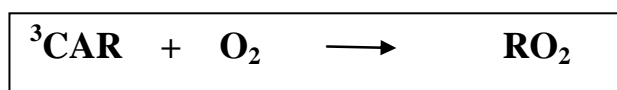


Entretanto, alguns estudos sugerem que os carotenoides não sejam catalisadores perfeitos de reações, podendo gerar, inclusive, subprodutos oxigenados e assumir ação pró-oxidante em algumas reações com oxigênio. Esse efeito pró-oxidante é observado quando altas concentrações de carotenoides são submetidas a altas pressões de oxigênio. Em pressões parciais de oxigênio, ou seja, na maior parte das condições fisiológicas ou em concentrações normais isso não acontece (CARDOSO, 1997; KRINSKY e JOHNSON, 2005; UENOJO, JUNIOR e PASTORE; 2007).

A interação dos carotenoides com radicais livres pode gerar reações adicionais, após a liberação do ${}^3\text{CAR}$ (UENOJO, JUNIOR e PASTORE, 2007):



O ${}^3\text{CAR}$ ao reagir com uma molécula de oxigênio pode levar a formação de um peróxido (UENOJO, JUNIOR e PASTORE, 2007):



Contudo, no meio biológico, em condições fisiológicas normais, os carotenoides encontram-se associados a outros sistemas de óxido-redução como o ácido ascórbico e o α -tocoferol, e sua ação é sinérgica (UENOJO, JUNIOR e PASTORE; 2007).

A capacidade de sequestro do oxigênio singlete está relacionada à sua estrutura química, ou seja, ao extenso sistema de duplas ligações conjugadas. Quanto mais duplas ligações (a partir de nove), maior a proteção conferida pelo carotenóide. Dentre os carotenoides com reconhecida atividade antioxidante, relevantes na saúde humana, encontram-se a luteína, a zeaxantina, o α -caroteno, o β -caroteno e o licopeno.

O licopeno, substância acíclica, é considerado o mais eficiente de todos os carotenoides, inclusive em relação ao β -caroteno, que é dicíclico (RODRIGUEZ-AMAYA e KIMURA, 2004; RODRIGUEZ-AMAYA, KIMURA e AMAYA-FARFAN, 2008).

1.3.4.3.2. Na resposta inflamatória

O estresse oxidativo, caracterizado por intensa sobrecarga de radicais livres, é extremamente lesivo as estruturas celulares. As células submetidas ao estresse liberam biomarcadores que sinalizam a agressão ao sistema imunológico desencadeando uma resposta inflamatória. A quantidade de carotenoides encontrados no sangue excede a atividade da enzima que os converte em pró-vitamina A (retinol), fornecendo indícios de sua participação na modulação da resposta inflamatória (THURNHAM, 2007).

Estudos que reportam o β -caroteno no plasma de indivíduos com baixas concentrações de retinol, bem como a redução das concentrações sanguíneas de carotenoides durante processos infecciosos confirmam essa suposição (THURNHAM, 2007). A persistência do estresse oxidativo pode lesar o DNA, possibilitando a carcinogênese.

1.3.4.3.3. Na prevenção do câncer e atividade celular

Na década de 80 e início da década de 90, muitos estudos retrospectivos (caso-controle) e prospectivos (coorte), realizados em diversos países, demonstraram que o consumo alimentar de β -caroteno ou sua concentração plasmática, diminuía a incidência de câncer e doenças cardiovasculares. Contudo, estudos de intervenção realizados posteriormente mostraram aumento na incidência de câncer de pulmão em fumantes e trabalhadores expostos ao amianto associado ao consumo de β -caroteno (RODRIGUEZ-AMAYA e KIMURA, 2004).

Posteriormente, foi observado que nos estudos acima, o β -caroteno havia sido administrado em doses muito superiores (5-6 vezes $>$) do que os níveis de IDR considerados ótimos em estudos populacionais. Também foi assumida a possibilidade de ação sinérgica entre outros carotenoides e demais componentes da dieta. Por outro lado, os pacientes em que foi registrado aumento na incidência de câncer, possivelmente encontravam-se em um estágio elevado de dano tal, por serem fumantes excessivos ou pacientes expostos longamente ao amianto (reconhecido cancerígeno), que os efeitos dos carotenoides já não seriam eficientes (RODRIGUEZ-AMAYA e KIMURA, 2004).

Como consequência, os carotenoides são reconhecidos por sua importância na prevenção do câncer, não isoladamente e em altas concentrações, mas sim em conjunto com

outros carotenoides e demais substâncias bioativas existentes em cada alimento. Assim, a ação seria resultado de sinergismo entre dois ou mais compostos ou por efeito complementar, considerando que cada substância possui mecanismo de ação específico (RODRIGUEZ-AMAYA e KIMURA, 2004).

Os principais carotenoides relacionados à proteção contra o câncer são o licopeno, o β -caroteno e o α -caroteno, embora os mecanismos de ação ainda não estejam esclarecidos, bem como a participação efetiva de outros carotenoides. Contudo, as funções que os carotenoides desempenham nas células ajudam a elucidar essas questões (KRINSKY e JOHNSON, 2005, RODRIGUEZ-AMAYA, KIMURA e AMAYA-FARFAN, 2008).

O crescimento celular é regulado pela comunicação entre as células. Entre células saudáveis, a comunicação ocorre por meio de junções porosas que permitem a difusão de moléculas com peso molecular abaixo de 1000 daltons. Os carotenoides são capazes de aumentar o número de poros estimulando a comunicação celular. Esse estímulo justifica os resultados encontrados na literatura sobre o efeito dos carotenoides nas células tumorais, uma vez que aumentando a comunicação celular pode-se induzir apoptose (morte celular) ou propiciar o desenvolvimento de células (Quadro 5) (KRINSKY e JOHNSON, 2005, RODRIGUEZ-AMAYA, KIMURA e AMAYA-FARFAN, 2008).

Quadro 5. Estudos que relacionam carotenoides ao crescimento de células tumorais.

Células Tumorais	Carotenoides	Efeito no crescimento tumoral	Referência
Pâncreas, estômago e neuroblastoma	α -caroteno	↓ 50%	KRINSKY e JOHNSON, 2005;
Mama, endométrio, fígado, pulmões, pele e bexiga	Licopeno	↓ (4-10 vezes) mais que α e β -caroteno	KRINSKY e JOHNSON, 2005; UENOJO, JUNIOR e PASTORE; 2007)
Câncer de próstata	Licopeno	↑ o risco de crescimento	UENOJO, JUNIOR e PASTORE; 2007
Câncer de próstata	β -caroteno, neoxantina, fucoxantina, fitoflueno e ζ -caroteno	↓ o crescimento	UENOJO, JUNIOR e PASTORE; 2007
Câncer de próstata	Fitoeno, cantaxantina, zeaxantina e β -criptoxantina	s/ efeito	UENOJO, JUNIOR e PASTORE; 2007

1.3.4.3.4. Na prevenção de doenças cardiovasculares

A oxidação das lipoproteínas de baixa densidade (LDL) é fator de risco para doenças cardiovasculares. As LDL também são as principais transportadoras do β -caroteno e do licopeno. Este fato associado à capacidade desses carotenoides de reagirem com os radicais peroxil reforça a ideia da atuação destes carotenoides na proteção contra a arteriosclerose e doenças coronárias, por evitarem a oxidação das LDL (UENOJO, JUNIOR e PASTORE, 2007).

Estudos recentes têm comprovado que o consumo de alimentos à base de tomate, que são ricos em licopeno, promove a redução da oxidação das LDL (Quadro 6). Foi confirmado que a absorção do licopeno de produtos processados é mais eficiente do que do produto *in natura*, pois o processamento térmico permite a liberação do licopeno de outros compostos, tornando-o mais biodisponível (RODRIGUEZ-AMAYA e KIMURA, 2004; UENOJO, JUNIOR e PASTORE, 2007).

Quadro 6. Efeitos dos carotenoides em doenças cardiovasculares.

Tipo de Estudo/Duração	População Estudada	Carotenoides Estudados	Efeito Protetor Cardiovascular	Referências
Multicêntrico	10 países europeus	Licopeno	↑	KOLHMEIER <i>et al.</i> ,1997
Multicêntrico	10 países europeus	α -caroteno e β -caroteno	Não observado	KOLHMEIER <i>et al.</i> ,1997
Prospectivo de 7,2 anos	Mulheres	Licopeno	↑	SESSO <i>et al.</i> ,2003
Prospectivo de 12 anos	Mulheres EUA	α -caroteno e β -caroteno	↑	OSGANIAN <i>et al.</i> ,2003
Prospectivo de 12 anos	Mulheres EUA	Licopeno, β -criptoxantina, luteína e zeaxantina	Não observado	OSGANIAN <i>et al.</i> ,2003

1.3.4.3.5. Na proteção macular e visão

A existência de um pigmento de cor amarela na região central da retina denominada mácula ou mácula lútea, termo este originado do latim *macula* (ponto) *lutea* (amarelo), foi relatada pela primeira vez em 1782. Anos mais tarde, em 1945, estudos demonstraram que a

absorção de luz do pigmento macular era típica dos carotenoides, especificamente das xantofilas. Somente em 1985, a separação dessas substâncias por cromatografia líquida e a análise dos seus espectros permitiram identificá-las como sendo as xantofilas luteína e zeaxantina (DAVIES e MORELAND, 2004).

Na mácula encontra-se a fóvea, região central da visão, e os cones, fotoreceptores responsáveis pela distinção das cores (Figura 11). A imagem formada nesta região é de alta resolução espacial, com grande nitidez e percepção de cores. A degeneração macular é a principal causa da perda de visão em idosos (DAVIES e MORELAND, 2004; RODRIGUEZ-AMAYA e KIMURA, 2004).

A posição da retina determina que o seu centro esteja focado na luz de comprimento de onda de 560 nm, sendo a cor verde, referente a este comprimento de onda, o máximo da sensibilidade do olho humano. Enquanto que os comprimentos de onda referentes ao azul e ao vermelho se localizam nas extremidades, representando menor sensibilidade (DAVIES e MORELAND, 2004).

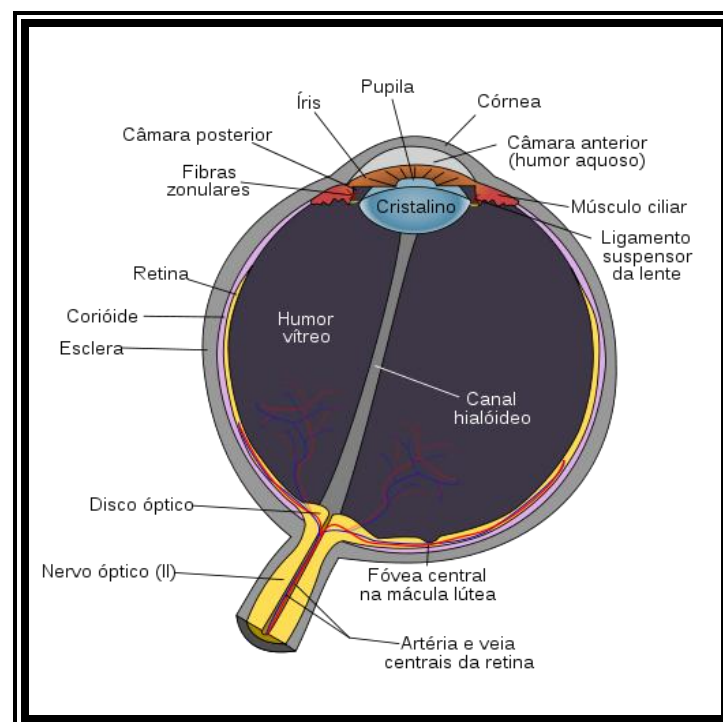


Figura 11. Representação do olho humano e localização da fóvea central e mácula lútea (FONTE: RHCASTILHOS, 2012)

A luteína e a zeaxantina encontram-se na extremidade do olho humano, onde a sensibilidade é menor. A soma dos espectros desses dois carotenoides promove uma zona de absorção muito eficiente na faixa de 400 a 500 nm. Na prática, esses carotenoides funcionam como filtro para a luz azul, que embora possua alta energia, ao chegar à retina apresenta baixa resposta visual (DAVIES e MORLAND, 2004).

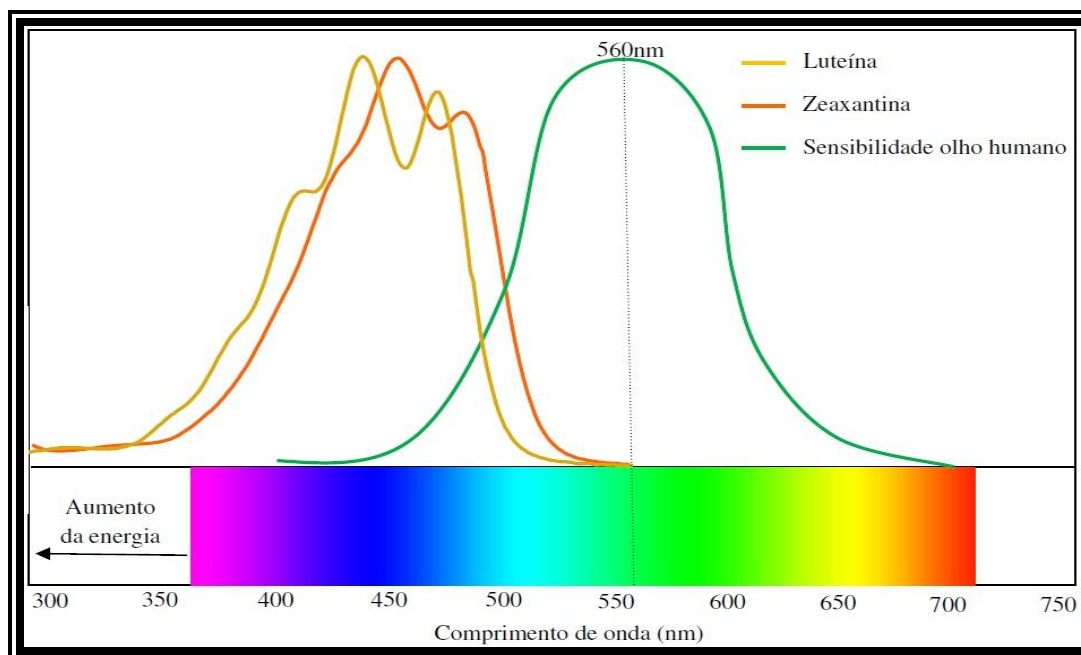


Figura 12. Espectros de absorção da luteína, zeaxantina e do olho humano. (FONTE: PACHECO, 2009).

A ação protetora da retina pelos pigmentos maculares é atribuída à capacidade antioxidantes destes carotenoides. A retina é um tecido delicado que não possui a capacidade de se regenerar após sofrer danos. Possui função vital (responsável pela visão) e é considerada o tecido com maior atividade metabólica do organismo. Por esta razão, a camada fotorreptora é mantida altamente oxigenada e com grandes concentrações de ácidos graxos poli-insaturados (DAVIES e MORLAND, 2004).

Tanto a localização quanto a função da retina a tornam sujeita a danos. Esses danos podem ser provocados pela radiação incidente ou gerados por processos internos, como a formação de espécies reativas de oxigênio. Os pigmentos maculares atuam como barreira fotoprotetora, diminuindo a luz de baixos comprimentos de onda e neutralizando as espécies reativas de oxigênio geradas pela luz ou por processos internos (DAVIES e MORLAND, 2004).

No olho, a zeaxantina e a luteína também são encontradas no cristalino. Os mesmos mecanismos de ação descritos anteriormente são atribuídos a esses pigmentos e se relacionam com a proteção desta lente contra a radiação UV e radiação azul. A deficiência desses carotenoides está associada ao risco aumentado de catarata, bem como a ingestão está associada à redução do risco. A catarata é uma doença dos olhos que se apresenta pelo embaçamento progressivo, podendo levar à cegueira. Atualmente a extração do cristalino comprometido pela doença é uma das cirurgias mais frequentemente realizadas em idosos (RODRIGUEZ-AMAYA e KIMURA, 2004).

1.3.4.3.6. Como pró-vitamina A

De todas as atividades atribuídas aos carotenoides na saúde humana, a que mais se destaca é sua capacidade de conversão em precursores de vitamina A. Segundo Ambrósio, Campos e Faro (2006), dos mais de 600 carotenoides conhecidos, aproximadamente 50 são precursores de vitamina A.

A vitamina A participa da manutenção do crescimento normal de estruturas ósseas, de tecidos epiteliais prevenindo a queratinização, além de ter importância na modulação da resposta imunológica, eficiência da reprodução, prevenção de doenças e proteção ocular (PENTEADO, 2003).

O termo vitamina A é utilizado para designar compostos químicos específicos como retinol e seus ésteres ou, ainda, compostos com atividade biológica semelhante a do retinol. A vitamina A é a mais estudada das vitaminas por desempenhar diversas funções no corpo humano e também por sua deficiência representar grandes agravos em saúde pública (SOUZA e BOAS, 2002).

A deficiência prolongada dessa vitamina, conhecida como hipovitaminose A, é um problema de grande impacto nutricional em todo o mundo, quase sempre associada à desnutrição energético-protéica, infecções parasitárias, doenças diarreicas, deficiências de zinco e distúrbios hepáticos. Todos esses problemas são conhecidos em países em desenvolvimento e atingem principalmente as populações de risco: crianças, idosos e gestantes (PENTEADO, 2003).

A hipovitaminose A é uma doença que afeta as estruturas de diversos órgãos sendo no olho seu efeito mais grave. Quando instalada, a doença se manifesta por diminuição da sensibilidade da retina à exposição luminosa no período noturno. Se não tratada, a sequência de alterações no epitélio corneal provoca uma síndrome ocular conhecida como xerofthalmia,

que pode levar à cegueira parcial ou total. Chegando-se a esse nível, a doença é irreversível, tornando-se um problema de alto impacto em saúde coletiva considerando a população atingida (PENTEADO, 2003).

A ocorrência da deficiência de vitamina A é um problema de saúde pública mundial sendo registrada em crianças na África do Sul, em pré-escolares nas Ilhas Mashall e Honduras, em escolares na Costa do Marfim e em gestantes na Índia, Nepal e Malawi. Estima-se que 2,8 milhões de crianças em idade pré-escolar correm o risco de cegueira por hipovitaminose A e outras 251 milhões têm a saúde e sobrevivência seriamente comprometidas (HESS, THURNHAM e HURRELL, 2005; WHO, 2012).

No Brasil, a deficiência de vitamina A, juntamente com anemia e desnutrição energético-protéicas, ainda são considerados um dos mais importantes problemas nutricionais em várias regiões, em especial no Nordeste (PENTEADO, 2003).

Os principais carotenoides presentes nos alimentos que apresentam atividade de pró-vitamina A são o β -caroteno, o α -caroteno e a β -criptoxantina. A atividade de precursor de retinol depende da estrutura química do carotenoide. A estrutura deve possuir ao menos um anel β -ionona não substituído ligado à cadeia poliênica de 11 carbonos. Como o β -caroteno possui dois anéis β -ionona não substituídos em ambos os lados de uma cadeia de duplas ligações conjugadas, é considerado o carotenoide com a maior atividade pró-vitamina A (100%). Os demais carotenoides possuem apenas um anel e, portanto, 50% de atividade. (PENTEADO, 2003; RODRIGUEZ-AMAYA e KIMURA, 2004).

As recomendações de ingestão dos carotenoides mencionados são baseadas no aumento do consumo de frutas e vegetais, para inclusive contemplar outros compostos ativos que permitem o sinergismo de ação e seus benefícios. Com isso, é válido conhecer a composição e suas respectivas quantidades nos alimentos.

1.3.5. Métodos de análise de carotenoides

A metodologia analítica usual para identificação e quantificação de carotenoides é a cromatografia, que consiste em arrastar os componentes de uma determinada amostra com o uso de um solvente. A cromatografia (*chrom* de cor e *graphie* de escrever) foi descrita pela primeira vez em 1906, pelo botânico russo Mikhael Semenovich Tswett que utilizou colunas de vidro recheadas de vários sólidos, divididos finamente, para separar componentes de extratos de folhas e de gema de ovo. A partir de então, a técnica foi aperfeiçoada e vários

tipos de cromatografia foram desenvolvidos, inclusive a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) (COLLINS, BRAGA e BONATO, 1997).

No entanto, a cromatografia em coluna aberta (CCA) de carbonato de cálcio ainda é utilizada na separação de carotenoides em amostras complexas, também na pré-purificação de amostras complexas e na preparação de padrões analíticos (RODRIGUEZ-BERNALDO *et al.*, 2006). Os dados mais antigos sobre a composição qualitativa e quantitativa de carotenoides em alimentos no Brasil foram obtidos por cromatografia de coluna aberta (CCA) e os recentes, obtidos por CLAE, têm sido confirmados muitas vezes por CCA ou espectrometria de massas (RODRIGUEZ-AMAYA, KIMURA e AMAYA-FARFAN, 2008).

Atualmente, a técnica analítica mais utilizada para análise de carotenoides é a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e apresenta como vantagens: rapidez, simplicidade, reprodutibilidade, maior capacidade de resolução, precisão e sensibilidade (PENTEADO, 2003). Vários métodos em fase normal e reversa foram desenvolvidos para separação de carotenos e xantofilas. Os detectores utilizados são o ultravioleta-visível (UV-VIS) e o detetor de arranjo de fotodiodos (DAD). Entretanto, para matrizes muito complexas ou para confirmação da identidade do carotenoide, o detetor de espectrometria de massas é utilizado (RODRIGUEZ-BERNALDO *et al.*, 2006).

A primeira etapa da análise de carotenoides é a extração. A escolha do melhor solvente para extração será determinada pelo tipo de amostra, do seu processamento e da sua composição de carotenoides. Normalmente, solventes orgânicos miscíveis com a água, como a acetona, são utilizados na extração de amostras frescas e solventes imiscíveis, como o éter de petróleo, são usados na extração de amostras secas ou liofilizadas (MERCADANTE, 1999). Uma vez que os carotenoides são altamente instáveis quando isolados, são utilizados alguns antioxidantes como o hidroxibutiltolueno (BHT) no intuito de diminuir as perdas (RODRIGUEZ-BERNALDO *et al.*, 2006).

A necessidade de hidrolisar os ésteres de carotenoides e remover lipídios e clorofilas que interferem na análise justifica a etapa de saponificação. A saponificação consiste em expor o extrato obtido na etapa de extração a uma determinada concentração de hidróxido de potássio por um período de tempo, seguida de sucessivas lavagens para retirada do álcali. As xantofilas presentes em frutas, geralmente estão esterificadas com ácidos graxos, desse modo, a saponificação é indispensável para a correta identificação dos carotenoides (MERCADANTE, 1999; PENTEADO, 2003).

Embora a saponificação possibilite melhores resultados do ponto de vista qualitativo, o mesmo não ocorre em termos quantitativos. Essa etapa aumenta o tempo de análise o que juntamente com a exposição ao álcali pode provocar a formação de produtos secundários indesejáveis, mediante a isomerização, resultando, por exemplo, na perda dos carotenoides. Os carotenos, pró-vitâmicos, resistem à saponificação, contudo, perdas consideráveis de carotenoides oxigenados têm sido relatadas com frequência (KIMURA, RODRIGUEZ-AMAYA e GODOY, 1990; SÁ e RODRIGUEZ-AMAYA, 2003).

A fase móvel influencia a separação de carotenoides. A presença de água influencia a separação de carotenoides polares, enquanto carotenoides apolares são relativamente insensíveis a sua presença. Separações completas são obtidas com fases não aquosas de metanol e éter metil-*tert*-butílico (MTBE), inclusive do licopeno que é retido em fases metanólicas, embora a acetona possa ser utilizada com o mesmo propósito (SANDER, SHARPLESS e PURSCH, 2000).

A coluna C30 é utilizada preferencialmente por sua eficiência na seletividade, tanto de carotenoides quanto de seus isômeros, e por fornecer retenção adequada para resolução de carotenoides polares, o que garante maior exatidão e confiabilidade dos resultados (NUNES e MERCADANTE, 2006).

Os padrões analíticos com o nível de pureza exigidos para a calibração disponíveis no mercado são de alto custo, dependendo de importação, além de não haver garantias de entrega em condições adequadas de armazenamento, o que pode comprometer toda a análise (PACHECO, 2009). Padrões de alguns tipos de carotenoides não estão disponíveis comercialmente, o que tem levado muitos pesquisadores a produzirem os padrões utilizados em suas análises a partir da sua extração de fontes naturais e seu isolamento prévio por CCA (MERCADANTE, RODRIGUEZ-AMAYA e BRITTON, 1997; PACHECO, 2009).

1.3.6. Efeitos do processamento e estocagem na composição de carotenoides

Os carotenoides são estáveis quando estão no interior da célula dos vegetais, onde se encontram ligados a proteínas (carotenos) e complexados a ácidos graxos (xantofilas). Entretanto, por serem compostos altamente insaturados, quando isolados são sensíveis à luz, ao oxigênio, ao calor, ácidos (perdas de carotenos), álcalis (perdas de xantofilas) e ação enzimática, principalmente por lipoxigenases. A exposição a agentes agressores promove a formação de isômeros geométricos (*cis*) e pode conduzir à destruição da molécula (COSTA, ORTEGA-FLORES e PENTEADO, 2002; PENTEADO, 2003).

Sabe-se que a biossíntese de carotenoides continua mesmo após a colheita, aumentando o teor de carotenoides em frutas e outras hortaliças desde que o produto seja mantido intacto. O corte e a trituração ativam a liberação de enzimas (lipoxigenases) que catalisam a oxidação dos carotenoides, principalmente carotenos, além de aumentar a exposição ao oxigênio. A causa principal de perdas de carotenoides durante o processamento ou estocagem é a oxidação, enzimática ou não. Em muitos alimentos, a oxidação enzimática provoca maiores perdas do que a degradação térmica ou oxidação não enzimática (RODRIGUEZ-AMAYA, KIMURA e AMAYA-FARFAN, 2008).

No caso específico das frutas, a remoção da casca e a elaboração de sucos resultam em perdas consideráveis de carotenoides. Estão descritos na literatura científica exemplos que demonstram perdas na maioria das vezes, sendo maiores nos sucos e menores em polpas congeladas, como pode ser observado no Quadro 4 para acerola, caju, manga e pitanga.

A retenção de carotenoides diminui independentemente do tipo de processamento e do vegetal a ser processado, em função do tempo e da temperatura de processo. Para aumentar a retenção de carotenoides, recomenda-se diminuir o tempo e a temperatura de processamento, diminuindo assim o tempo de exposição aos agentes que causam as perdas desses compostos (RODRIGUEZ-AMAYA, KIMURA e AMAYA-FARFAN, 2008).

De modo geral, o congelamento preserva os carotenoides. Porém, o descongelamento lento pode ser prejudicial se não foi realizado branqueamento prévio, pelos fatores associados ao binômio tempo/temperatura de exposição (RODRIGUEZ-AMAYA, KIMURA e AMAYA-FARFAN, 2008).

Lopes, Mattietto e Menezes (2005) em estudo da estabilidade da polpa de pitanga sob congelamento por 30, 60 e 90 dias, referiram perda significativa de carotenoides totais nos primeiros 30 dias de estocagem, sem decréscimo posterior.

Agostini-Costa, Abreu e Rossetti (2003) referiram perdas de 20% para β -caroteno no 4º mês de estocagem por congelamento e de 37% para β -criptoxantina no 1º mês de estocagem por congelamento da polpa de acerola.

Contudo, Fernandes e col. (2007) não encontraram diferenças significativas nos teores de carotenoides totais em suco de goiaba pasteurizado previamente após 30 dias de congelamento.

Alternativas para aumentar a retenção e reduzir as perdas de carotenoides em frutas, requerem a adoção de métodos que excluam o oxigênio, como acondicionamento a vácuo, utilização de embalagens impermeáveis ao oxigênio, aplicação de atmosferas inertes, proteção

contra luz, além do armazenamento em baixas temperaturas (RODRIGUEZ-AMAYA, KIMURA e AMAYA-FARFAN, 2008).

1.4. Microfiltração

Carotenoides, assim como outros compostos, são bastante sensíveis, podendo ser degradados por vários fatores como temperatura, presença de oxigênio, luz, umidade, pH e duração do tratamento ao qual o alimento foi submetido (CORREIA, FARAONI e PINHEIRO-SANTANA, 2008), o que justifica a busca de processos tecnológicos que minimizem estas perdas.

Processos tecnológicos alternativos que minimizem perdas de nutrientes pelo calor e promovam a esterilidade comercial do produto final podem e devem ser otimizados. Os processos de separação por filtração por membranas são opções viáveis por envolverem baixo consumo de energia, redução do número de etapas de processamento, maior eficiência na separação, maior qualidade do produto final, aumento na recuperação de suco, redução da viscosidade, esterilização a frio para envasamento asséptico e minimização de resíduos com recuperação da fração retida (MILNES, BRESLAU e REARDON, 1986; STRATHMANN, 1990).

No sistema convencional de filtração, a alimentação e o escoamento do fluido são perpendiculares à superfície da membrana (Figura 13), o que provoca o entupimento dos poros por deposição de solutos com maior facilidade e exige a interrupção do processo para limpeza ou substituição do filtro. Os sistemas de filtração por membranas que utilizam a filtração tangencial (Figura 13), consistem na alimentação pressurizada do fluido paralelo a superfície da membrana. Esse tipo de filtração é mais eficiente por minimizar a deposição de sólidos, uma vez que a velocidade promove o arraste dos solutos que tendem a se acumular na superfície da membrana, permitindo a obtenção da fração permeada (clarificada) e do retentado (fração concentrada), que é recirculado no sistema (PAULSON, WILSON e SPATZ, 1984).

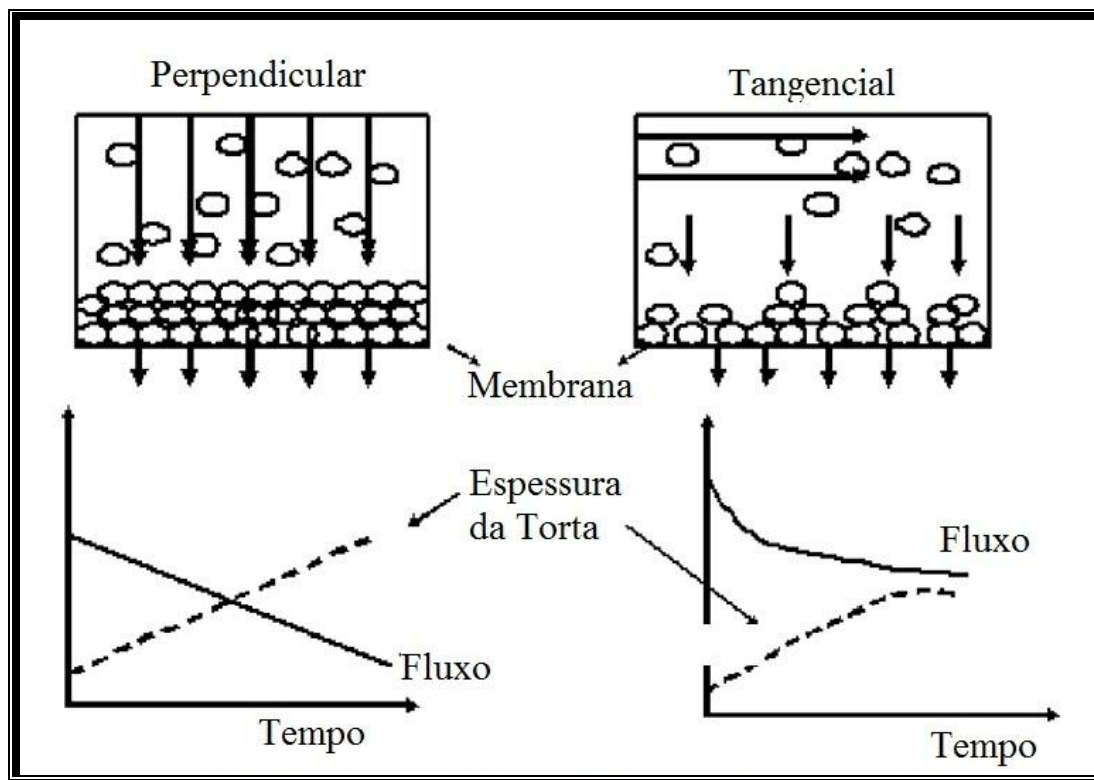


Figura 13. Diferenças entre a filtração perpendicular e a filtração tangencial (FONTE: Adaptado de CHERYAN, 1998).

Os processos com membranas mais conhecidos e utilizados são a microfiltração (MF), ultrafiltração (UF), nanofiltração (NF), pervaporação (PV) e osmose inversa ou reversa (OR). O que diferencia os processos são os tipos de membrana utilizados, o mecanismo de separação e a pressão utilizada. Na MF, UF e NF o mecanismo de separação é a permeação (filtração) enquanto que na PV e na OR o mecanismo de separação se baseia no coeficiente de difusão (pressões) dos componentes através da membrana. Assim, na MF, UF e NF são utilizadas membranas porosas e na PV e OR são utilizadas membranas densas semipermeáveis e esses processos são geralmente utilizados em etapas de pré-processamento para concentração (CHERYAN, 1998; MATTA *et. al.*, 2004).

Na Figura 14 são observados os tipos de processos com membranas de acordo com suas aplicações e faixas de pressão.

Na UF são utilizadas pressões compreendidas entre 10 a 200 psi (0,5 a 13 Bar) e membranas com abertura de poro de 10 Å a 0,45 µm, sendo o material retido de maior peso molecular como proteínas e polissacarídeos e na fração filtrada são encontrados açúcares, sais dissolvidos e água. Na MF a faixa de pressão utilizada é de 1,0 (0,05 Bar) a 25 psi (2,0 Bar) e a abertura de poro de membrana de 0,1 a 10 µm, o material retido contém peso molecular de

500 kDa aproximadamente e na fração filtrada são encontrados água e sólidos dissolvidos (SCHNEIDER e CZECH, 1994).

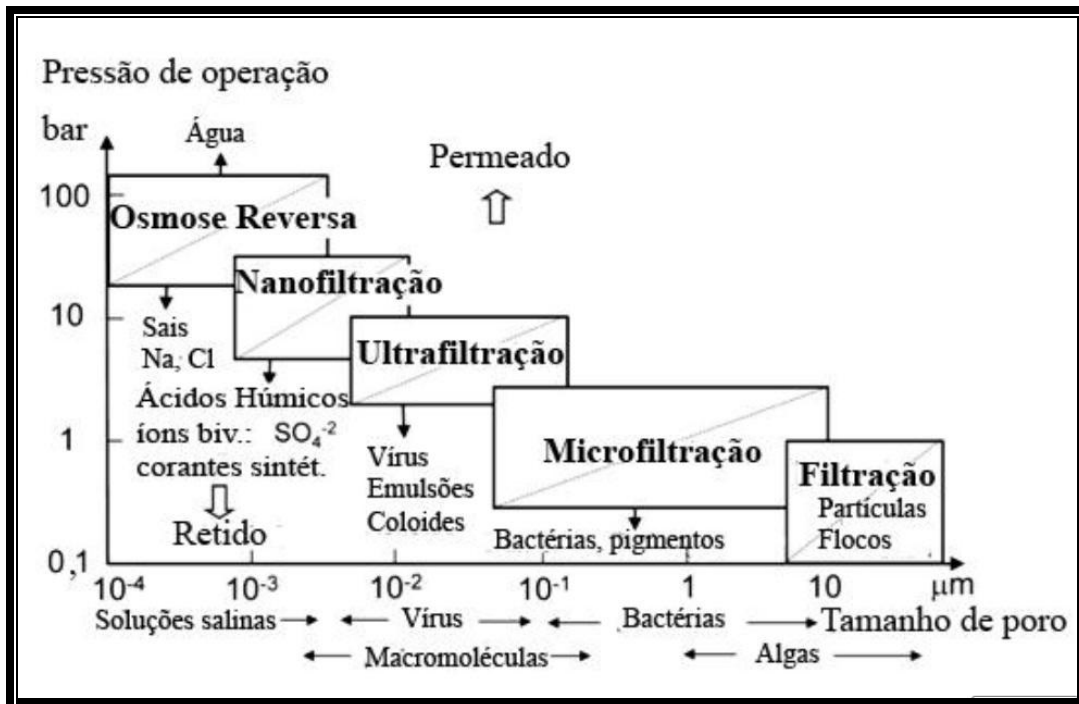


Figura 14. Processos com membranas: utilização e faixa de pressão. (FONTE: Adaptado de SIEGIRST e JOSS, 2004).

A microfiltração (MF) pode então ser definida como mecanismo de filtração por membranas que utiliza a pressão como força motriz, sendo sua habilidade de separação baseada no tamanho das partículas, ou seja, seu peso molecular. O mesmo se aplica a UF e a NF (CARVALHO, GAVA e ABADIO, 2002).

A utilização de sucos de frutas clarificados por processos com membranas de microfiltração já é uma realidade no mercado internacional e vários trabalhos científicos reportam formas de aplicação da tecnologia de membranas, quer seja na elaboração de bebidas gaseificadas, energéticas e/ou isotônicas (CARVALHO *et al.*, 1998, CARVALHO, GAVA e ABADIA, 2002, MATTA, CABRAL e SILVA, 2004, PALLET *et al.*, 2005, CIANCI *et al.*, 2005).

As exigências do mercado consumidor, no que diz respeito a sucos de frutas clarificados, levam à investigação das suas características nutricionais quanto à composição física, química, qualidade sensorial e microbiológica, uma vez que nos processos de clarificação com membranas de ultrafiltração (UF), com ou sem prévio tratamento, vários

compostos de valor nutricional e sensorial podem não ser recuperados no suco permeado/clarificado ou, ainda, serem retidos na polpa concentrada ou na camada de compactação sobre a superfície das membranas, como reportado por Carvalho, Gava e Abadio (2002). Portanto, a avaliação de perdas de nutrientes após a clarificação de sucos e polpas por microfiltração se faz necessária.

O mecanismo de separação parece ser bem mais complexo sofrendo influências da configuração do equipamento, da pressão, da temperatura, da dinâmica do fluido, da composição da membrana e da superfície da membrana (KOSEOGLU, RHEE e LUSAS, 1989). De acordo com Cheryan (1998) a natureza da membrana controla quais componentes permearão e quais ficarão retidos de acordo com seu peso molecular ou tamanho de partículas, sendo então o principal fator envolvido nos processos.

1.5. Tipos de membranas

As membranas são estruturas essenciais em processos de UF e MF. A escolha do tipo de membrana será determinada pelo produto final desejado. Elas foram criadas e são produzidas em diversos materiais como acetato de celulose, polissulfona (PS), polietersulfona (PES), cerâmica, fluoreto de polivinilideno (PVDF), nylon, metais ou polímeros inorgânicos (CARVALHO, 2004). A espessura, o diâmetro dos poros (que afetarão a seletividade), a permeabilidade à água e a porosidade são as características mais importantes das membranas. Outras características não menos importantes são os fluxos de permeado e as resistências térmica, química e mecânica (OSTERGAARD, 1989).

Para Cheryan (1998) a membrana tem como função principal servir de barreira seletiva, permitindo a passagem de alguns componentes de uma mistura e retendo outros. A seletividade de separação se relaciona com as dimensões da molécula ou partícula de interesse, o tamanho do poro, a difusibilidade do soluto na matriz e às cargas elétricas associadas.

A escolha do sistema de membranas deve levar em consideração a porosidade e o coeficiente de retenção da membrana (HABERT, BORGES e NÓBREGA, 1997). Nos processos de UF e MF o principal fator relacionado à seletividade de separação é a diferença de tamanho entre moléculas e partículas e o diâmetro do poro da membrana, que são tradicionalmente porosas e permitem a passagem de solvente e de solutos menores (NUNES, 1994).

O tamanho do poro da membrana indica a massa molecular de corte (MWC ou *cut off*), ou seja, a massa molecular do menor componente que ficará retido com eficiência mínima de 95%. Geralmente, a unidade mais utilizada para a massa molar de corte é o Dalton (Da) para separação de macromoléculas especialmente na UF. Membranas de MF possuem poros normalmente maiores que as membranas de UF, sendo definido o diâmetro do poro em micrômetros (μm) (MODLER, 2000). Segundo Vaillant e col. (2001) membranas com diâmetro de poro menor que $0,2 \mu\text{m}$ permitem a passagem de nutrientes e componentes aromáticos característicos, preservando o frescor e o aroma natural além de reter bactérias, o que garante a esterilização a frio.

A porosidade difere do tamanho ou diâmetro dos poros da membrana. Trata-se da relação entre a parte sólida e os poros da membrana ou a “quantidade de vazios” de sua estrutura, sendo expressa em poros/cm^2 (densidade dos poros). Assim, quanto maior a porosidade, menor será a resistência ao fluxo de solvente através da membrana (CHERYAN, 1998).

Existem membranas de diversas configurações conforme pode ser observado na Figura 15 (quadro e placas – A, tubular – B, fibra oca – C e em espiral – D) que são produzidas a partir de duas classes distintas de material, os polímeros constituídos de material orgânico (acetato de celulose, poliamidas, polissulfonas, polifluoreto de vinilideno, entre outros) e os inorgânicos (metais e materiais cerâmicos). De acordo com a evolução tecnológica, as membranas são denominadas como sendo de 1ª, 2ª e 3ª geração (CHERYAN, 1998). As diferenças entre as principais membranas utilizadas em processos de MF podem ser visualizadas no Quadro 7.

Ainda se classificam em isotrópicas e anisotrópicas. Carvalho (2004) denomina membranas isotrópicas aquelas que possuem regularidade no diâmetro do poro, enquanto nas anisotrópicas há assimetria entre o diâmetro dos poros entre um lado e o outro.

Membranas anisotrópicas ainda se subdividem em assimétricas e compostas. As assimétricas possuem uma película extremamente fina ($0,2-1,0 \mu\text{m}$) sobre um suporte poroso de mesmo material. Nas compostas, o material da película é diferente e o processo obtido em duas etapas (CARVALHO, 2004).

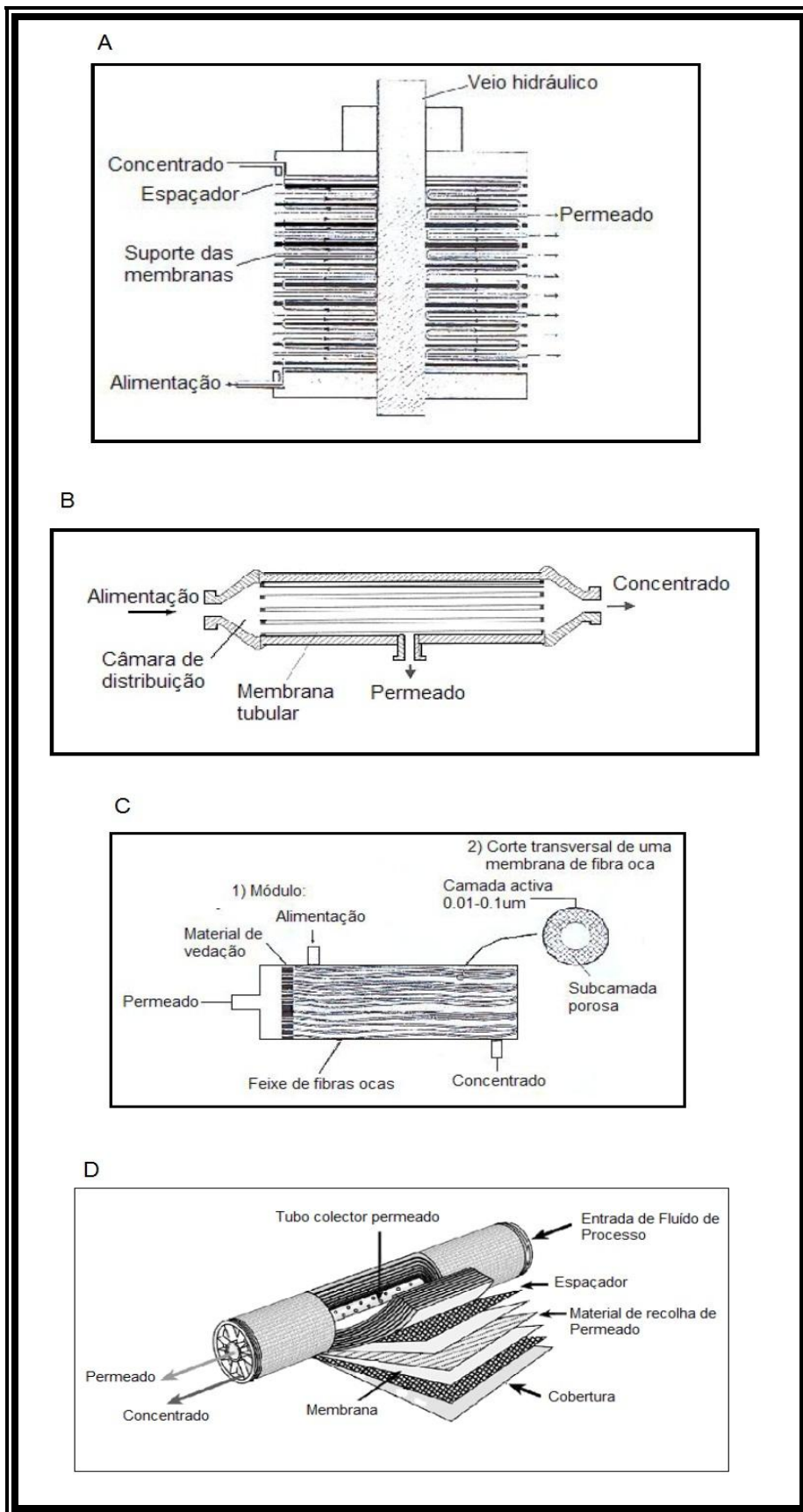


Figura 15. Configuração dos sistemas de filtração por membrana: **A** – Quadro e placas; **B** – Tubular; **C** – Fibra oca; **D** – Espiral (FONTE: CARVALHO, 2008).

Quadro 7. Diferenças entre as principais membranas utilizadas em processos de MF (SUTHERLAND e FREE, 1991; ZANINI, 1994; CHERYAN, 1998).

Membranas	Acetato de Celulose (AC)	Polissulfona (PS)	Polietersulfona (PES)	Cerâmica
Classificação Tecnológica	1ª Geração	2ª Geração	2ª Geração	3ª Geração
Custo	Baixo	Baixo	Baixo	Elevado
Temperatura	Até 30 °C	Até 125 °C	Até 125 °C	Até 400 °C
pH	Abaixo de 3 e Superior a 8	1 a 13	1 a 13	0 a 14
Pressão	-	2 a 8 Bar	2 a 8 Bar	Até 20 Bar
Limpeza	Baixa tolerância ao cloro	Suporta a cáustica e ácida	Suporta a cáustica e ácida	-
Geral	Sensíveis à ação microbiana, principalmente bolores	Alta estabilidade, rigidez e resistência à oxidação	Alta estabilidade, rigidez e resistência à oxidação	São quimicamente inertes e menos suscetíveis a perda da capacidade de permeação

Existem ainda, as chamadas Membranas Dinâmicas Auto-Formadas – *Self-forming Dynamic Membranes* formadas pela própria solução a ser clarificada/permeada (CARVALHO, 2004). Caracterizam-se pela deposição de compostos orgânicos e inorgânicos sobre o suporte poroso durante o processo de filtração, sob determinadas pressões. Esse comportamento envolve dois fenômenos que são a formação da camada de gel subsequente à polarização de concentração, que ocorrem da seguinte forma: o soluto é carregado por convecção até a superfície da membrana; nela, o solvente permeia a membrana deixando o soluto para trás; como a taxa de permeação do solvente é mais elevada que a de difusão do soluto, o mesmo se acumula na superfície da membrana (polarização de concentração), podendo formar a camada gel. Nos dois casos, o fluxo do processo passa a ser controlado pela permeabilidade da camada polarizada ou pelo gel formado. Esses fenômenos são responsáveis pelas diferenças entre o fluxo de permeado inicial e final comparado com o fluxo de água pura (CHERYAN, 1998).

As partículas maiores ou macromoléculas favorecem a polarização de concentração e a formação da camada gel pelo acúmulo de solutos na superfície da membrana. Essas membranas dinâmicas auto formadas também reduzem o fluxo de permeado, mas de modo reversível, sendo minimizada por condições de escoamento (tipo de fluxo tangencial) ou

aumento da pressão, estratégias essas que permitem elevar relativamente a permeabilidade (CARVALHO, 2004; MAGALHÃES *et al.*, 2005). São ainda importantes por minimizarem um problema comum de compactação e obstrução interna do poro, evitando a queda do fluxo e perda da integridade e vida útil da membrana durante os processos de UF e MF, além das vantagens de facilidade de recuperação e remoção de resíduos, podendo se formar a partir de diferentes materiais (CARVALHO, 2004).

Partículas ou moléculas menores que o diâmetro do poro da membrana permeiam livremente a interface da membrana e podem ficar retidas no interior dos mesmos, causando o fenômeno conhecido como entupimento ou bloqueamento chamado por Cheryan (1998) de colmatagem. Isso pode resultar em queda do fluxo provocada pelo menor diâmetro do poro ou ainda perda total da vida útil ou da integridade da membrana pelo bloqueio, muitas vezes irreversível (MAGALHÃES *et al.*, 2005). Em caso de obstrução dos poros, o módulo deve ser desmontado para limpeza, entretanto, dependendo do material da membrana os procedimentos de limpeza podem ser ineficientes, comprometendo ou inviabilizando sua reutilização (CHERYAN, 1998).

Assim, para Merlo e col. (1993) o maior problema relacionado aos processos com membranas, afetando inclusive a viabilidade econômica dos mesmos, é conhecido como *fouling* e caracteriza-se pela queda do fluxo que ocorre de modo irreversível, responsável pela perda da integridade e vida útil da membrana durante os processos de UF e MF. Diferencia-se dos demais fenômenos citados apenas no que se refere à possibilidade de reversão da queda do fluxo e recuperação da permeabilidade hidráulica da membrana com possibilidade de reutilização da mesma, assumindo que a camada gel, a polarização de concentração e a colmatagem podem ocasioná-lo. Contudo, Oliveira e col. (2006) bem como outros autores (VAILLANT *et al.*, 2001; SILVA *et al.*, 2005) definem o *fouling* como o conjunto de fenômenos capazes de provocar uma queda no fluxo durante os processos de UF e MF.

A clarificação é utilizada para retirada de substâncias indesejáveis ao suco, sendo assim, geralmente os componentes químicos diminuídos no suco clarificado são aqueles de maior peso molecular. Em relação a carboidratos, pectina e amido, por terem maior peso molecular, são responsáveis pela turbidez da polpa e, por isso, indesejáveis no clarificado, e comumente ficam retidos. Dissacarídeos e monossacarídeos podem estar reduzidos em função da seletividade imposta pelo diâmetro de poro da membrana. Entretanto, os açúcares possuem menor peso molecular em comparação com outras moléculas, como proteínas e lipídios. Assim, as condições do processo que incluem: diâmetro de poro da membrana, pressão

aplicada, tipo de fluxo e processo e a polarização de concentração, certamente influenciam os resultados obtidos na clarificação de sucos (WANG, WEI e YU, 2005).

A determinação da permeabilidade a diferentes pressões previamente aos processos de clarificação é de grande importância para determinar as condições da membrana, garantir sua integridade e as mesmas condições para processos subsequentes. Quando realizada entre os processos, permite identificar se houve entupimento dos poros da membrana (CARVALHO, 2004).

A hidrólise enzimática prévia ao processo pode minimizar o *fouling* (VAILLANT *et al*, 1999; DE PAULA *et al*, 2004), porém, nem sempre é uma opção, tendo em vista que a redução das partículas pode induzir o *fouling* pelo entupimento interno dos poros da membrana, com possibilidade de perda irreversível de sua capacidade de filtração (BARROS *et al*, 2003; CIANCI *et al*, 2005; SILVA *et al*, 2005; CASTRO, ABREU e CARIOCA, 2007). Pallet e col. (2005) testaram dois tipos de tratamento enzimático prévio ao processo de MF em suco de laranja, obtendo melhores resultados em termos de fluxo de permeado e qualidade do permeado para apenas um dos tratamentos, indicando que o tipo de enzima utilizada pode interferir no processo e na qualidade do produto final obtido.

As exigências do mercado consumidor no que se refere a sucos de frutas clarificados se baseiam em dois pontos: transparência e homogeneidade considerando a manutenção das características nutricionais e sensoriais do suco natural (VAILLANT *et al*, 2001). Para Venturini Filho, Dornier e Belleville (2003), o suco clarificado deve diferir do suco natural na consistência pela ausência de polpa, sem turbidez, sem atividade enzimática e microbiologicamente estável quando o diâmetro do poro é igual ou menor que 0,3 μm e possuir composição química similar ao suco natural.

A retenção de carotenoides nos processos com membranas tem sido estudada apenas para carotenoides totais ou licopeno (PALLET *et al.*, 2005; SILVA *et al*, 2005). Maiores teores de carotenoides têm sido associados à hidrólise enzimática prévia, como no caso de sucos de goiaba, laranja e maracujá (PALLET *et al.*, 2005; SILVA *et al*, 2005). Contudo, os achados reportados para sucos de laranja por Pallet e col. (2005) demonstram que nem todos os tratamentos enzimáticos são eficazes para aumentar os teores de carotenoides. Entretanto, os mesmos autores reportaram boa concentração de licopeno em suco de melancia clarificado por MF em membranas de 0,2 μm de diâmetro de poro sem tratamento enzimático prévio, indicando que a matriz da fruta determinará a utilização ou não do tratamento enzimático.

Portanto, vale investigar se entre os carotenoides totais encontrados na polpa de cagaita encontram-se precursores da vitamina A, como o isômero *trans* do β -caroteno, em quantidades significativas, ou outros carotenoides com alguma atividade relacionada à promoção de saúde, bem como investigar se a utilização de processos com membranas de microfiltração para a obtenção de sucos clarificados podem reduzir perdas ocasionadas pelo processamento térmico. Na possibilidade de confirmação de alguma dessas hipóteses, haverá agregação de valor à fruta, aumentando seu potencial comercial.

2. Objetivos:

2.1. Geral:

Caracterizar a polpa da cagaita (*Eugenia dysenterica* DC) quanto à sua composição física e química e avaliar possíveis perdas de carotenoides da polpa integral após clarificação por microfiltração.

2.2. Específicos:

- Obter polpas de cagaita clarificadas em sistema de membranas de microfiltração;
- Determinar os teores de carotenoides totais e dos carotenoides e isômeros individualmente encontrados nas polpas integrais e clarificadas;
- Determinar a composição centesimal quanto ao tamanho de partículas, os teores de umidade; cinzas, proteínas, carboidratos e lipídios, o teor de sólidos solúveis (°Brix) e pH das polpas antes e após a clarificação e,
- Determinar a qualidade microbiológica das polpas integral e clarificada.

3. Material e Métodos:

3.1. Matéria-Prima:

Foram adquiridos da cooperativa Benfruc, situada em Damianópolis, no estado de Goiás, 64 litros de polpa de cagaita integral. A polpa adquirida foi produzida (Figura 16) a partir dos frutos da cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) madura colhidos, manualmente, entre

os dias 21, 22, 24, 25, 29 e 30 de novembro de 2009, na cidade de Damianópolis, no estado de Goiás. Após a higienização (imersão em hipoclorito de sódio 200 ppm) e seleção, os frutos foram triturados com casca, porém sem sementes, embalados em sacos de polietileno, mantidos sob congelamento a $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ até a realização dos processos de microfiltração (clarificação) por membranas e as demais análises no Laboratório de Tecnologia e Análise Instrumental de Alimentos/UFRJ, e no Laboratório de Bromatologia da Faculdade de Farmácia/UFRJ, Rio de Janeiro.



Figura 16. Fluxograma de produção de polpa de cagaita.

3.2. Delineamento dos experimentos:

As polpas comerciais foram descongeladas, divididas em 3 (três) lotes e identificadas como Lote 1: as polpas produzidas a partir dos frutos colhidos entre os dias 21 e 22 totalizando 22,2 litros; Lote 2: com frutos colhidos entre os dias 24 e 25, contendo 20 litros e Lote 3: colhidos entre os dias 29 e 30 com 21,8 litros. Em seguida, cada lote foi homogeneizado e armazenado em recipientes de PVC com capacidade de 1 L. As amostras foram congeladas a $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$, em freezer, até o momento da execução dos experimentos, que tiveram início em maio de 2010. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

Inicialmente, foram realizadas análises de carotenoides totais para identificar diferenças entre os lotes. Com base nos dados da Tabela 1, o Lote 3 foi selecionado para realização do processo de microfiltração por membranas. Contudo, o rompimento de uma

borracha de vedação contaminou o suco, o processo foi então descontinuado e a amostra descartada. Uma segunda tentativa foi realizada com o Lote 2, mas houve ruptura abrupta da membrana aos 40 minutos de processo, inviabilizando o mesmo e a amostra. Assim, as análises apresentadas nesse estudo, se referem ao Lote 1, que será identificado como polpa de cagaita.

Tabela 1. Carotenoides totais da polpa de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC).

Amostras	Carotenoides totais (μg)
Lote 1	8,22 \pm 0,06*
Lote 2	7,94 \pm 0,11*
Lote 3	8,72 \pm 0,13*

Resultados expressos em média de três extrações e DP. * As amostras na mesma coluna apresentam diferença significativa ($P < 0,05$).

3.3. Composição centesimal das polpas:

3.3.1. Proteínas

Foram pesados aproximadamente 0,5 g para análise de proteínas das polpas integral, concentrada e clarificada. Foi utilizado o método Kjeldahl de acordo com os procedimentos preconizados pelo Instituto Adolfo Lutz (2005).

Todas as análises foram realizadas de acordo com os procedimentos preconizados pelo Instituto Adolfo Lutz (2005). O teor de carboidratos foi calculado por diferença. Os resultados obtidos foram expressos pela média \pm desvio padrão.

3.3.2. Umidade

Para determinação da umidade foram pesados aproximadamente 4 g das polpas integral, concentrada e clarificada. O procedimento adotado foi o preconizado pelo Instituto Adolfo Lutz (2005), gravimetricamente, até peso constante em estufa 105 °C.

3.3.3. Lipídios

Para determinação de lipídios, foram utilizados os pesos das amostras secas (3 g aproximadamente) das polpas integral, concentrada e clarificada. Os lipídios foram determinados após extração direta em Soxhlet, de acordo com os procedimentos preconizados pelo Instituto Adolfo Lutz (2005).

3.3.4. Cinzas

Foram pesados 3 g (aproximadamente) das polpas integral, concentrada e clarificada para determinação do teor de cinzas por incineração em mufla a 450 °C.

3.3.5. Carboidratos

O teor de carboidratos foi determinado por diferença, de acordo com os procedimentos preconizados pelo Instituto Adolfo Lutz (2005).

3.4. Sólidos Solúveis:

O teor de sólidos solúveis (°Brix) das polpas integral, concentrada e clarificada foram determinados em refratômetro de Abbé, com leitura direta a 20 °C (A.O.A.C., 1998) em triplicata.

3.5. pH:

O potencial hidrogeniônico das polpas integral, concentrada e clarificada foi determinado utilizando-se potenciômetro da marca METROHM 632, após calibração com tampões 4 e 7 (A.O.A.C. Método 94527, 1998).

3.6. Análise do Tamanho de Partículas:

O tamanho de partículas presentes em sucos e polpas de frutas é utilizado para avaliar e observar a viscosidade antes e após a hidrólise enzimática (em caso de hidrólise enzimática), dentre outras finalidades (CARVALHO, 2004). A análise da frequência e o tamanho de partículas da polpa integral foi determinada por método ótico de difração e reflexão com raio laser, em analisador de partículas ANALYSETTE 22, Fritsch GmbH, Malaysia. Os parâmetros experimentais para a realização da análise consistiu na agitação da amostra a 49 rpm, velocidade da bomba de 29 rpm, distância da célula de 57 mm a 474 mm, faixa de leitura de 1,04 µm a 1250,45 µm, sem a utilização de ultra-som (CARVALHO, 2004). Análise foi realizada pela Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro.

3.7. Microfiltração e clarificação das polpas:

Foram descongelados 10 litros de polpa de cagaita do Lote 1 e, a seguir, peneirados para retirada de material insolúvel, o qual poderia causar o entupimento dos poros, comprometendo a integridade da membrana, dificultando o processo. Utilizou-se volume de

8,9 litros na alimentação do sistema de membrana de MF, após retirada de 1,1 L na etapa de filtração em peneira da polpa de cagaita.

As polpas foram clarificadas em sistema PROTOSEP IV da Koch *Industries* (Figura 17), equipado com membrana tubular de polietersulfona com diâmetro médio de poro de 0,3 μm , utilizando-se pressões de 0,5; 1,0; 1,5 e, 2,0 Bar para estabelecer o melhor desempenho em termos de fluxo de polpa permeada, ficando estabelecida a pressão de 2,0 Bar para realização do experimento. A polpa clarificada foi mantida congelada até o momento das análises.

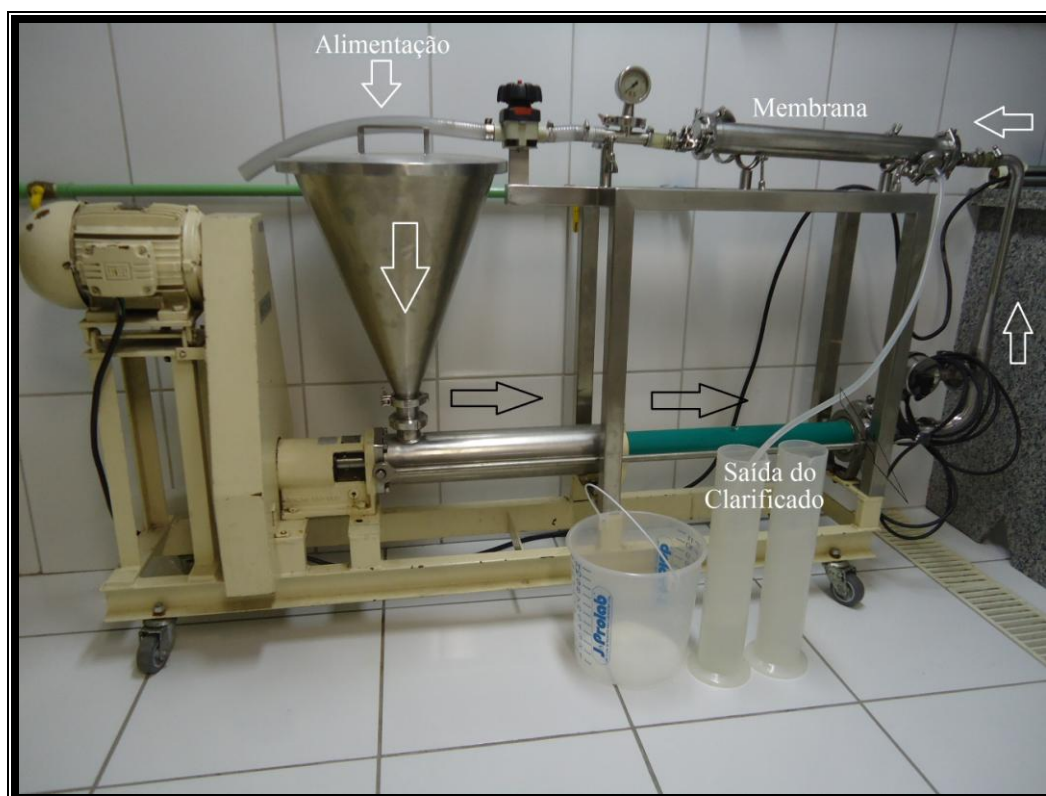


Figura 17. Foto do Sistema PROTOSEP IV da KOCH *Industries* de filtração por membranas.

3.7.1. Limpeza do sistema de membranas:

Antes do processo, foram realizadas etapas de limpeza para recuperar a permeabilidade hidráulica da membrana. O procedimento de limpeza foi realizado como descrito por Carvalho (2004) e consistiu em:

- Recirculação de água destilada para remoção de qualquer resíduo do sistema antes do processo inicial e qualquer resíduo de polpa nos processos subsequentes;

- Adição de solução de hipoclorito de sódio a 1% (pH 11) a 45 °C por 30 minutos na pressão de 1,0 Bar;
- Desinfecção da membrana com peróxido de hidrogênio a 1%, seguida de lavagem com solução de hidróxido de potássio em água ultrapura nas mesmas condições;
- Para retirada total da solução final, água destilada é recirculada e trocada a cada 5 minutos até o total de 30 minutos.

3.7.2. Permeabilidade hidráulica da membrana:

A permeabilidade hidráulica da membrana PES de 0,3 µm, foi medida 5 vezes em cada uma das pressões: 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0 Bar, em temperatura ambiente (22-24 °C). O tempo (em segundos) foi mensurado de acordo com o volume recolhido (mL). O fluxo hidráulico foi calculado pela fórmula:

$$J = V/a.t$$

Onde:

J = fluxo permeado;

V = volume de água permeada;

a = área de membrana (0,05 m²);

t = tempo (hora).

3.8. Análises microbiológicas:

A ANVISA estabelece padrões microbiológicos para polpas de frutas comerciais, que incluem a contagem de bolores e leveduras, coliformes totais e fecais e *Salmonella sp* por meio da Resolução RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001. A cagaita é descrita por Roesler *et al.* (2007), como um fruto bastante susceptível a processo fermentativo, quando exposta ao sol. O pH da polpa também favorece o crescimento de uma microflora limitada à bactérias lácticas e acéticas, bolores e leveduras, que são capazes de comprometer a qualidade do produto, representando riscos ao consumidor (CARVALHO, 2004). Por estas razões e, ainda, para confirmação da eficiência da MF como processo de esterilização a frio, a análise microbiológica foi realizada.

As polpas (integral e concentrada) e o suco clarificado foram analisados quanto à contagem padrão em placas (CPP), bolores e leveduras, coliformes totais e fecais e pesquisa de *Salmonella* segundo Speck (1984) pelos laboratórios: Laboratório de Microbiologia de Alimentos – Instituto de Microbiologia Paulo de Góes/UFRJ e Laboratório de Controle Microbiológico de Medicamentos, Alimentos e Cosméticos (LACMAC) – Faculdade de

Farmácia/UFRJ. Os resultados foram comparados aos padrões estabelecidos para sucos de frutas segundo Resolução RDC 12/2001 do Ministério da Saúde.

3.9. Carotenoides totais após extração por solventes:

Os carotenoides totais foram analisados por espectrofotometria, na faixa do espectro visível, com leitura a 450 nm segundo metodologia de Rodriguez-Amaya e Kimura (2004), otimizada por Pacheco (2009), em triplicata. As amostras foram retiradas do freezer 24 horas antes de iniciar a análise e acondicionadas sob refrigeração para que descongelassem. No dia da realização das análises, as amostras foram retiradas da refrigeração e colocadas sob a bancada, protegidas da luz por papel alumínio por aproximadamente 10 minutos para que atingissem a temperatura ambiente. As amostras foram pesadas, inicialmente, em balança digital, *Bioprecisa*, modelo FA – 2104N, devidamente calibrada, e seus pesos descritos na Tabela 1. Fixou-se peso entre 10 e 11 g, pois este se mostrou massa mínima determinada para que a amostra se situasse na faixa de linearidade (0,2 – 0,8) de absorbância do espectrofotômetro. Com a ajuda de um bastão de vidro, a amostra foi transferida para almofariz. Foram adicionados 3 g de celite (454 – Tedia) e feitas adições de 25 mL de acetona (grau CLAE - Tedia[®]) para a maceração com a utilização de pistilo, formando uma pasta, que foi transferida para funil com placa sinterizada (nº 4) acoplado a um kitasato de 250 mL e filtrada a vácuo. Este procedimento foi repetido por 3 vezes até que a amostra fosse esgotada (incolor).

O extrato obtido foi transferido para funil de separação de 500 mL, contendo 40 mL de éter de petróleo (grau CLAE - Tedia[®]). A remoção da acetona foi realizada com água deionizada, ultrapura (Ultrapurificador de água, da Gehaka, modelo Master P&D), adicionada lentamente para evitar a formação de emulsão. A fase inferior foi descartada e este procedimento para remoção da acetona repetido quatro vezes, isto é, até que não mais houvesse resíduo de acetona na fase aquosa. O extrato foi transferido para balão volumétrico de 50 mL, âmbar, utilizando-se funil contendo 15 gramas de sulfato de sódio anidro e o volume completado com éter de petróleo. A seguir, foi realizada a leitura da amostra, em espectrofotômetro, na faixa do espectro visível no comprimento de onda de 450 nm, utilizando éter de petróleo como “branco”. Para o cálculo do teor de carotenoides totais foi utilizada a fórmula a seguir, onde:

$$\text{Teores de carotenoides } (\mu\text{/g}) = \frac{A \times V \text{ (mL)} \times 10^4}{A \frac{1}{\%} \times P \text{ (g)}}$$

A= Absorbância

V= Volume total de extrato

P = Peso da amostra

$A_{\frac{1\%}{cm}} = 2592$ (Coeficiente de Absorção do β -caroteno em éter de petróleo)

Após a leitura em espectrofotômetro, uma alíquota de 2 mL do extrato foi retirada com pipetadora automática e transferida para frasco âmbar de 4 mL, devidamente identificado, seca sob fluxo de nitrogênio, adicionada de um cristal de BHT, congelada a $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ e enviada ao Laboratório de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) da Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro para realização da análise cromatográfica. As análises foram realizadas em triplicata. As amostras (extrato seco) foram, então, ressuspensas em 100 μL de acetona, colocadas sob agitação em vortex *Genie 2* (Scientific Industries) e transferidas para frasco âmbar de 2 mL com redutor de volume, para a realização das análises por CLAE.

3.10. Carotenoides totais após a saponificação a frio:

Após a extração por solventes, acima descrita, até a etapa de transferência para balão volumétrico âmbar de 50 mL, o extrato etéreo foi transferido para erlenmeyer âmbar com rolha esmerilhada de 125 mL. Foi adicionado o mesmo volume (50 mL) de solução de hidróxido de potássio 10% p/v em metanol, a mistura foi submetida a fluxo de nitrogênio, foi adicionado 1% de BHT e, em seguida, o erlenmeyer foi fechado e envolto em papel alumínio laminado, visando preservar a amostra. A mistura foi então mantida em repouso por 16 horas em refrigerador (modelo DF47 - Eletrolux®). Após esse período, o extrato foi submetido a sucessivas lavagens (totalizando 4) em funil de separação e, posteriormente, transferido para balão volumétrico âmbar de 50 mL e o volume completado com éter de petróleo. Em seguida, foi realizada a leitura da absorbância da amostra, em espectrofotômetro (Thermo Fisher Scientific modelo Evolution 60), na faixa do espectro visível no comprimento de onda de 450 nm, utilizando éter de petróleo como “branco”, conforme preconizado por Rodriguez-Amaya e Kimura (2004) e otimizado por Pacheco (2009). Para o cálculo do teor de carotenoides totais foi utilizada a fórmula, a seguir:

$$\text{Teores de carotenoides } (\mu/\text{g}) = \frac{A \times V \text{ (mL)} \times 10^4}{A_{\frac{1\%}{cm}} \times P \text{ (g)}}$$

Onde:

A= Absorbância

V= Volume total de extrato

P = Peso da amostra

$A_{1\%}^{1\text{cm}} = 2592$ (Coeficiente de Absorção do β -caroteno em éter de petróleo)

Após a leitura em espectrofotômetro, uma alíquota de 2 mL do extrato foi retirada e transferida para frasco âmbar de 4 mL devidamente identificado, seca sob fluxo de nitrogênio, adicionada de BHT, congelada a -10 °C e enviada ao Laboratório de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) da Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro para realização da análise cromatográfica. As análises foram realizadas em triplicata. A seguir, as amostras (extrato seco) foram resuspensas com 100 μ L de acetona, colocadas sob agitação em vortex *Genie 2* (Scientific Industries) e transferidas para frasco âmbar de 2 mL, com redutor de volume, para a realização das análises por CLAE.

3.11. Sistema cromatográfico

As análises por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) foram realizadas em cromatógrafo da marca Waters 2695 - Modelo Alliance, com detector Waters 996, rede de Diodo UV/Vísivel de 350 nm a 600 nm, operado pelo software Empower. A coluna utilizada para as análises foi a C30 YCM Carotenoid S-3 (4,6 mm x 250 mm) de fase reversa da Waters. A fase móvel foi composta de metanol (Tedia, grau CLAE) e éter metil *terc*-butílico (Tedia, grau CLAE), segundo metodologia de Rodriguez-Amaya e Kimura (2004) otimizada por Pacheco (2009). Foi utilizado como padrão um mix de carotenoides extraídos de fontes naturais, de acordo com metodologia desenvolvida por Pacheco (2009). A composição do gradiente se encontra no Quadro 8.

3.11.1. Condições cromatográficas

As condições cromatográficas utilizadas foram:

- Temperatura do forno da coluna cromatográfica em 33 °C;
- Fluxo da fase móvel a 0,8 mL/minuto;
- Volume de injeção de 15 μ L;
- Tempo de análise de 28 minutos;
- Gradiente de eluição: fases móveis: A) Metanol e B) Éter metil-*terc*-butílico.

Quadro 8. Composição do gradiente da fase móvel utilizada nas análises.

Tempo em minutos	% Fase A	% Fase B
Inicial	80	20
0,50	75	25
15,00	15	85
15,05	10	90
16,50	10	90
16,55	80	20
28,00	80	20

3.11.2. Padrão mix de carotenoides

O padrão *mix* de carotenoides, utilizado para a análise cromatográfica, foi produzido por técnica validada por Pacheco (2009). O padrão contendo sete (7) carotenoides foi produzido a partir do isolamento de carotenoides de matrizes naturais (Quadro 9) por CCA (Cromatografia em Coluna Aberta) composta de partes iguais de óxido de magnésio e celite, ativados por 4 horas em estufa a 110 °C e compactada com sistema de vácuo por 1 hora. O padrão deve ter pureza mínima de 90% para ser considerado satisfatório.

Quadro 9. Padrões isolados de carotenoides

Carotenoide	Matriz	Massa (g) Utilizada na Extração	Etapas da Extração	% de Pureza
β -caroteno	Cenoura	15	Não saponificado	92-98,5
α -caroteno	Cenoura	15		93-98,4
Luteína	Espinafre	50		95,8-97,6
Violaxantina	Pimentão amarelo	30	Saponificado	96,0
β -criptoxantina	Caqui rama forte	50		90,8-92,8
Licopeno	Caqui rama forte	50		97,5-97,8
Zeaxantina	Laranjinha de jardim	10		90,2-97,9

Fonte: (PACHECO, 2009).

Os padrões isolados foram diluídos em solvente específico de cada carotenoide e quantificados por espectrofotometria em comprimento de onda específico para o carotenoide analisado (Quadro 10). Cada padrão isolado foi armazenado em ampola, contendo BHT e selado. As ampolas foram congeladas a -10 °C. A concentração de cada padrão foi de 50 µg/mL.

Quadro 10. Valores de solventes, comprimento de onda e absorvidade molar adequados para quantificação dos carotenoides (RODRIGUEZ-AMAYA, 2001).

Carotenoide	Solvente	Comprimento de onda em nm	Absortividade molar A^{1%}_{1cm}
β-caroteno	Éter de Petróleo	450	2592
α-caroteno	Éter de Petróleo	444	2800
Luteína	Etanol	445	2550
Violaxantina	Etanol	440	2550
β-criptoxantina	Éter de Petróleo	449	2386
Licopeno	Éter de Petróleo	470	3450
Zeaxantina	Éter de Petróleo	449	2348

Foram descongeladas 10 ampolas de cada um dos sete carotenoides, perfazendo um total de 70 ampolas. O sólido em cada ampola foi ressuspense em éter de petróleo e transferido para balão volumétrico de 200 mL âmbar. As ampolas foram rinsadas e o volume completado com éter de petróleo. A solução continha 500 µg de cada carotenoide e a concentração final de cada carotenoide era de 2,5 µg/mL. Alíquotas de 2 mL da mistura multipadrão foram transferidas para ampolas, posteriormente foram secas sob fluxo de nitrogênio em banho de areia a 35 °C, acrescidas de BHT e congeladas a -10 °C. Assim, cada mistura multipadrão continha 5 µg de cada um dos 7 padrões isolados.

3.11.3. Curva de calibração

Para a construção da curva de calibração uma ampola foi descongelada e os sólidos ressuspensos em 1 mL de acetona e agitação em vórtex. Alíquotas foram retiradas e transferidas para frascos de 2,0 mL, cada alíquota correspondendo a um ponto da curva de calibração. O solvente de cada frasco foi evaporado sob fluxo de nitrogênio e ressuspense em

100 µL de acetona. Em seguida foram transferidos para frascos com redutores de volume e analisados por CLAE. Cada alíquota foi injetada em triplicata para obtenção de uma curva de calibração de 7 carotenoides com faixa de trabalho de 7 pontos. A concentração final estabelecida para cada ponto da curva de calibração se encontra no Quadro 11. Os coeficientes de determinação (r^2) e equações das retas para cada carotenoide pode ser observado na Figura 18.

Quadro 11. Volumes das alíquotas da mistura multipadrão e concentração final dos pontos da curva de calibração aproximados (PACHECO, 2009).

Ponto da Curva de Calibração	Volume da Alíquota µL	Concentração Final µg/mL
1	10	0,5
2	30	1,5
3	50	2,5
4	70	3,5
5	100	5,0
6	130	6,5
7	160	8,0

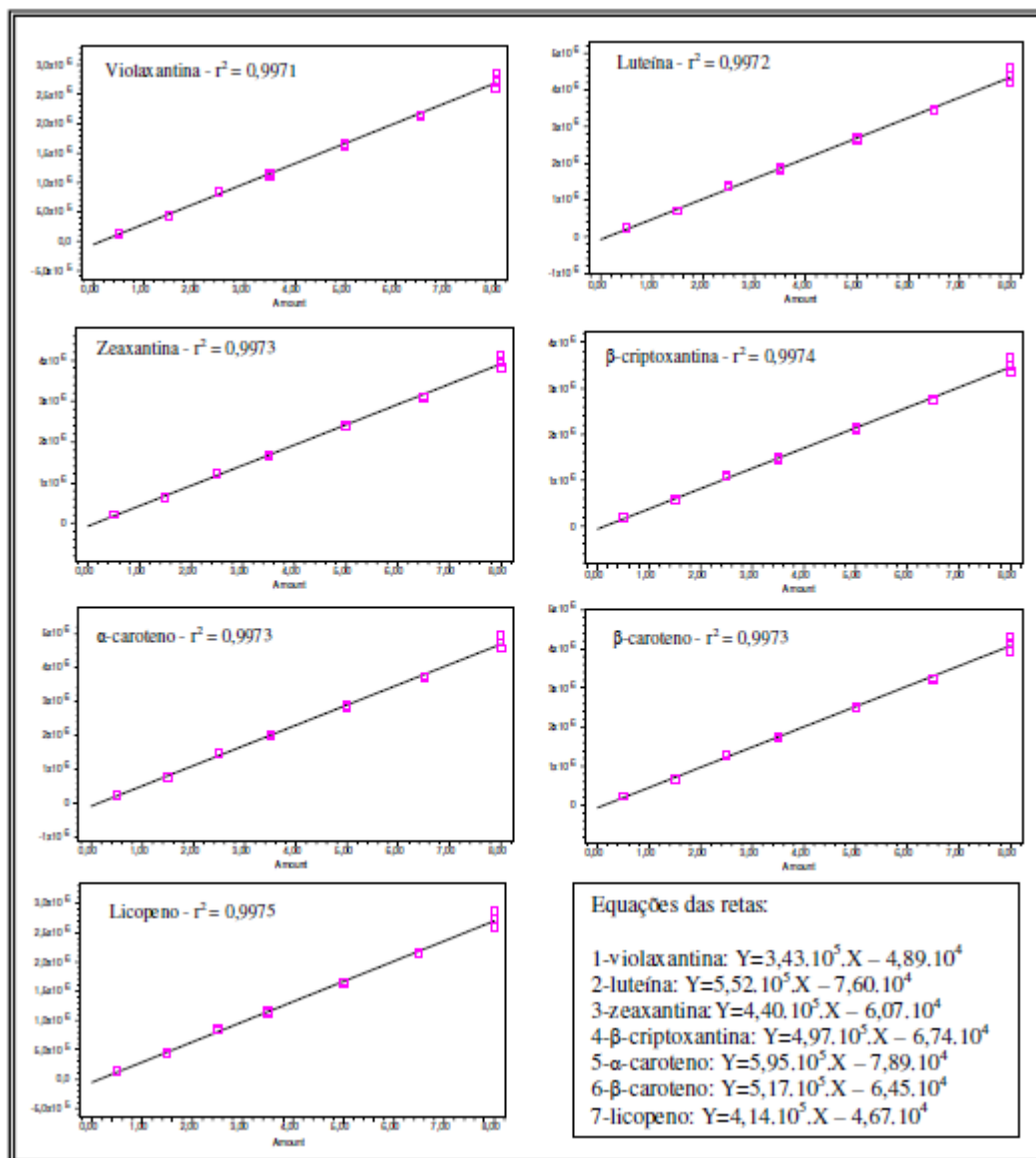


Figura 18. Curvas de calibração dos sete carotenoides e respectivos coeficientes de determinação (r^2) e equação das retas (FONTE: PACHECO, 2009).

O perfil cromatográfico da mistura multipadrão e os espectros obtidos (Figura 18) foram salvos como Method Set do software Empower, para comparações posteriores.

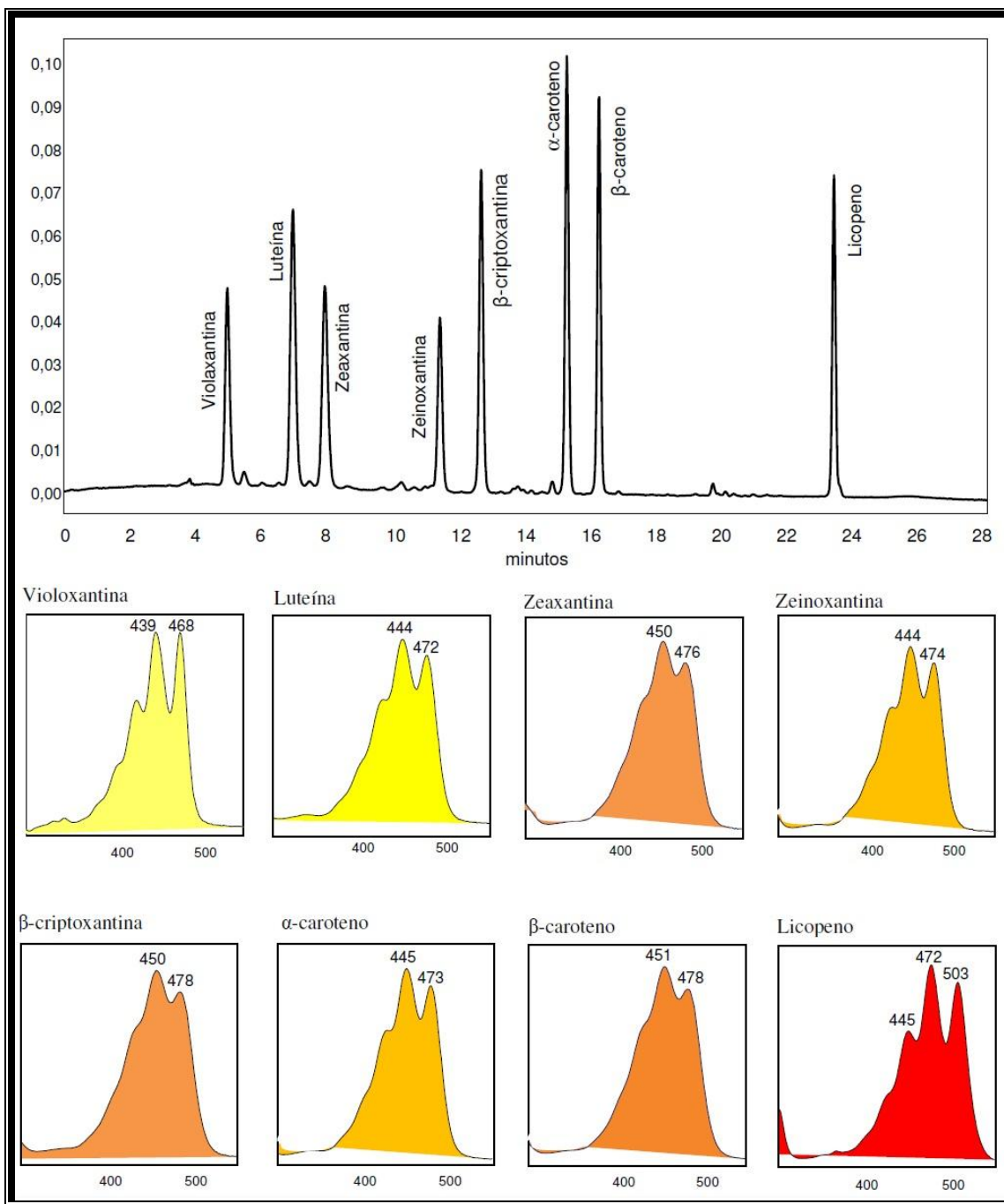


Figura 19. Perfil cromatográfico e espectros obtidos da mistura multipadrões (PACHECO, 2009).

3.11.4. Identificação e quantificação dos carotenoides da polpa de cagaita

Os carotenoides foram identificados por comparação dos tempos de retenção e dos espectros de UV/Vis característico de cada carotenoide.

Para a quantificação de cada carotenoide foi utilizada a fórmula:

$$\frac{\text{Teor de carotenoides totais} \times \% \text{ área do pico}}{100}$$

3.12 Avaliação dos Resultados:

Os resultados foram avaliados através da análise de variância ANOVA, em delineamento inteiramente casualizado, para verificar a presença de efeito significativo ($P < 0,05$) e, neste caso, foi aplicado o Teste de Duncan para determinar as diferenças entre as médias obtidas.

4. Resultados e Discussão

4.1. Condições de processo de MF de polpa de cagaita

4.1.1. Permeabilidade hidráulica da membrana

Os fluxos hidráulicos médios ($L/m^2 \cdot h$) da membrana de polietersulfona de $0,3 \mu m$, a diferentes pressões, anteriores ao processo de clarificação da polpa de cagaita, são encontrados na Tabela 02 e no Gráfico 1. O fluxo hidráulico aumentou, progressivamente, com o aumento da pressão, o que era esperado. O maior fluxo ($6089,1 L/m^2 \cdot h$) foi obtido à maior pressão aplicada (2,0 Bar), confirmando que o aumento do fluxo ocorre em função da pressão transmembrana.

Tabela 2. Fluxo hidráulico da membrana tubular de PES (0,3 μm) nas diferentes pressões aplicadas.

Pressão (Bar)	Permeabilidade (L/m ² .h)
2,0	6089,1
1,5	3529,0
1,0	1902,5
0,5	836,1

Os fluxos hidráulicos médios encontrados no presente estudo são superiores aos reportados por Carvalho, Castor e Silva (2008) para o mesmo tipo de membrana, variando de 3109,70 L/m².h e 4255,32 L/m².h, a pressões de 1,5 e 2,0 Bar, respectivamente.

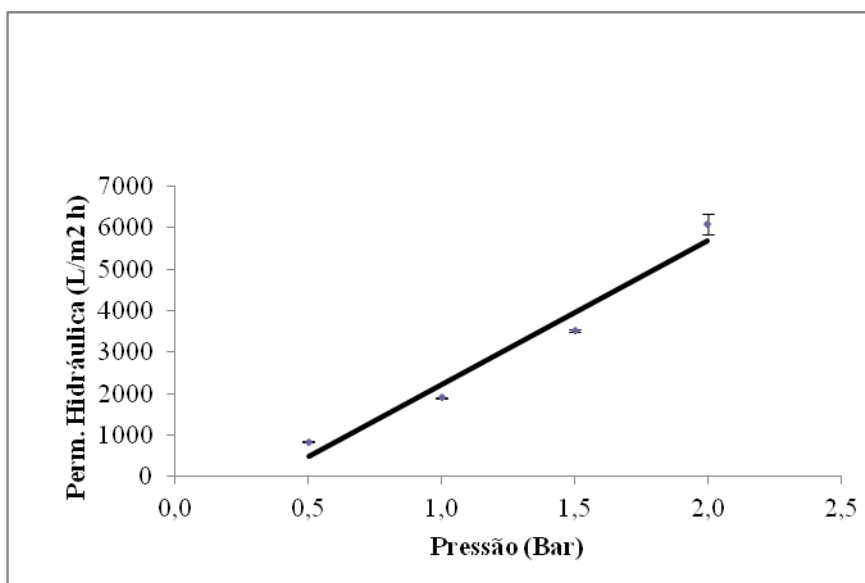


Gráfico 1. Permeabilidade hidráulica da membrana PES 0,3 μm em diferentes pressões.

Viana (2010) encontrou fluxos hidráulicos médios superiores aos do presente estudo para o mesmo tipo de membrana em diferentes pressões transmembrana, 0,5 (1241,95 L/m².h), 1,0 (2573,26 L/m².h) e 2,0 Bar (6870,07 L/m².h), respectivamente.

Membranas de MF com tamanhos de poro menores, como a membrana de PS de MF de 0,1 μm utilizada em módulo de placas, bem como as membranas de UF, apresentam fluxos hidráulicos menores que os da membrana de PES utilizada neste estudo, mesmo quando a pressões mais elevadas (CARVALHO, CASTRO e SILVA, 2008). Valores inferiores (51,5 e 173,2 $\text{L}/\text{m}^2\cdot\text{h}$, respectivamente) foram encontrados por Rodrigues *et al.* (2003) em estudo sobre a avaliação de parâmetros de processos com membranas com suco de banana, utilizando membrana plana (célula) de UF de polietersulfona com *cut-off* de 10 e 30 kDa, com área de membrana de 0,014 m^2 .

Os fluxos hidráulicos médios encontrados são compatíveis com os recomendados pelo fabricante da membrana, indicando que a mesma encontrava-se nas condições ideais antes do processo de clarificação da polpa de cagaita.

4.1.2. Rendimento e fluxo do processo de MF da polpa de cagaita integral

O rendimento total do processo de clarificação da polpa de cagaita integral foi de 43,7%, considerando o volume inicial de 10 L, a partir da retirada de 1,1 L na etapa de filtração anterior ao processo de MF para retirada de material insolúvel, a obtenção de 3,70 L de polpa clarificada e de 4,80 L de retentado remanescente do processo, além da perda de 40 mL provocada pela ruptura da membrana ao final do processo. O rendimento do processo considerando apenas o volume de 8,9 L usado na alimentação foi de 37%.

O rendimento do processo no presente estudo não foi considerado adequado para escala industrial, uma vez que de acordo com Vaillant e col. (2001) rendimentos acima de 75% são considerados ideais para aplicação industrial. Baixos rendimentos se relacionam com *fouling* e implicam em aumento de custos, tornando-se uma limitante para a viabilidade da aplicação da MF em escala industrial. Em contrapartida, uma estratégia utilizada para minimizar os custos é dar ao retentado valor econômico suficientemente alto ou semelhante ao da polpa integral. A obtenção do retentado com características semelhantes ao suco original utilizado na alimentação, inclusive características aromáticas, tem sido reportada por vários autores para sucos de frutas variadas (FUKUMOTO, DELAQUIS e GIRARDI, 1998; CARVALHO, SILVA e PIERUCCI, 1998; OLLE *et al.*, 1997), com exceção do teor de sólidos em suspensão, aumentados no retentado, mas que também podem ser reduzidos com a utilização de enzimas (VAILLANT *et al.*, 2001).

O rendimento do processo de MF do presente estudo foi menor do que o obtido por Viana (2010) em processo de MF de sucos de lima ácida convencional (75%) e orgânica

biodinâmica (73%) nas mesmas condições, ou seja, sem pré-tratamento enzimático e com membrana de PES semelhante. Porém, há que se considerar a variabilidade na constituição de cada suco ou polpa utilizada nos processos de clarificação.

Rendimentos maiores são atribuídos à hidrólise enzimática prévia ao processamento por membranas. Sreenath, Sudarshanakrishna e Santhanam (1994) obtiveram maior rendimento de suco de abacaxi previamente hidrolisado com pectinase e celulase comerciais (81-86%) quando comparado ao suco não hidrolisado (72%).

Carvalho (2004) avaliou o comportamento do suco de abacaxi previamente hidrolisado e clarificado com diferentes tipos de membranas e pressões. Obteve rendimentos de 62,50 e de 64,48%, nas pressões de 1,5 e 3,0 Bar, respectivamente, com membranas de PES de 0,3 μm e área de 0,05 m^2 . Porém, quando utilizou membrana de UF de PS com diâmetro de poro de 50 kDa e maior área de permeação (0,72 m^2) os rendimentos foram superiores (70,22% a 6,0 Bar e de 73,84% a 7,5 Bar). Os rendimentos foram mais elevados nas maiores pressões aplicadas.

A pressão utilizada no presente estudo foi de 2,0 Bar, tendo em vista que menores pressões foram ineficientes quanto a obtenção de fluxo mais elevado e estável. Houve pequeno declínio do fluxo em função do tempo considerando o fluxo inicial de 25,97 $\text{L}/\text{m}^2.\text{h}$ e final de 18,93 $\text{L}/\text{m}^2.\text{h}$ (Gráfico 2). A vazão média foi de 2,01 L/h , o fluxo médio de 20,15 $\text{L}/\text{m}^2.\text{h}$ e não houve variação de pressão durante o processo. O tempo total de processo foi de 1 hora e 50 minutos à temperatura ambiente ($\pm 20\text{ }^\circ\text{C}$).

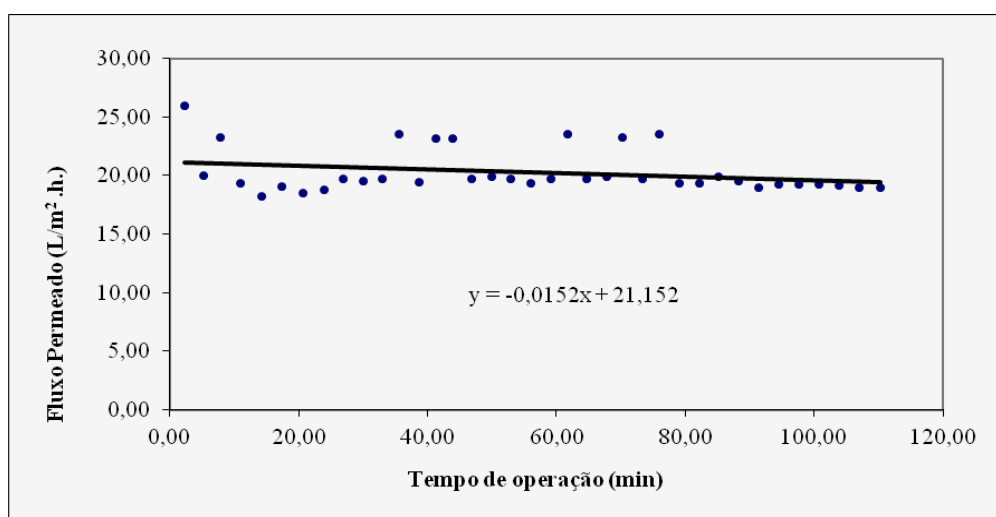


Gráfico 2. Comportamento do fluxo em função do tempo no processo de clarificação da polpa de cagaita.

Viana (2010) obteve fluxos médios que variaram de 75 L/m².h a 50 L/m². h, valores estes superiores ao do presente estudo quando da clarificação de sucos de lima ácida orgânica biodinâmica nas mesmas condições e sem tratamento enzimático prévio. Foi observada redução expressiva do fluxo de permeado ao longo dos processos independentemente da pressão aplicada (0,5 Bar).

Fluxos superiores são descritos em estudos que utilizam a etapa de hidrólise enzimática prévia ao processamento dos sucos de frutas. Silva e col. (2005) obtiveram fluxo médio de 25 L/m².h, na clarificação por MF, nas mesmas condições, com suco de maracujá orgânico hidrolisado, previamente, com α -amilase e pectinase. Houve rápido declínio do fluxo de permeado nos primeiros 30 minutos do processo de clarificação, seguido de estabilização até o final do processo. Em comparação ao presente estudo, o fluxo médio observado foi semelhante. Por outro lado, embora não tenha ocorrido rápido declínio no fluxo durante o processo de clarificação da polpa de cagaita, houve pequena diminuição do mesmo ao longo do tempo, o que é esperado pela deposição de sólidos na superfície da membrana.

Carvalho (2004) obteve fluxos médios de 57,55 L/m².h e 46,85 L/m².h a pressões de 1,5 e 3,0 Bar, respectivamente, durante o processamento do suco de abacaxi (com tratamento enzimático prévio) por MF com o mesmo tipo de membrana utilizada no presente estudo. Embora o fluxo tenha sido mais elevado a pressão de 1,5 Bar, houve um declínio acentuado do mesmo nos primeiros minutos de processo seguido de estabilidade até o final do processo (3 horas). Quando foi aplicada a pressão de 3,0 Bar, embora com fluxo médio menor, foi observado fluxo mais estável, com tendência a aumento após 2,5 horas do processo, o que pode ser explicado pelo fenômeno de arraste (atrito) das partículas insolúveis depositadas sobre a membrana pela polpa concentrada.

Suco de caju integral hidrolisado, clarificado em membrana de PES com diâmetro de poro de 0,3 μ m e área de 0,05 m², apresentou declínio inicial (nos primeiros vinte minutos) do fluxo, mais acentuado no suco integral, porém foram obtidos fluxos médios de 184 L/m².h nos dois processos após sua estabilização. A pressão de operação não foi mencionada o que inviabiliza a comparação dos resultados (CIANCI *et al.*, 2005).

Ao estudarem o comportamento do fluxo de suco de caju integral e hidrolisado clarificado por MF (membrana de cerâmica com 0,1 mm de poro e área de 0,005 m²) e UF (membrana de PVDF de 30-80 kDa e área 0,05 m²), Castro, Abreu e Carioca (2007) observaram fluxos médios mais elevados (300 L/m².h) nos sucos clarificados por MF

comparados aqueles clarificados por UF (140 L/m².h). Por outro lado, não foi observado aumento de fluxo relacionado à hidrólise enzimática prévia em relação ao suco integral, uma vez que o fluxo do suco hidrolisado foi menor que o do suco integral nas diferentes membranas.

Entretanto, Pallet e col. (2005) reportaram aumento de fluxo de permeado de 30% quando utilizaram membranas orgânicas (0,3 µm e área de 0,05 m²) e de 50% em membranas de cerâmica, avaliando o comportamento do fluxo de suco de laranja. Este aumento foi atribuído à hidrólise enzimática prévia. Os fluxos médios obtidos foram maiores que 60 L/m².h em todos os processos.

Yasan, Zhijuan e Shunxin (2007) reportaram fluxos médios mais elevados (60 L/m².h), na clarificação por MF, de suco de maçã hidrolisado em sistema quadro e placas com membrana plana de 0,2 µm à pressão de 2,0 Bar.

Fluxos de permeado inferiores (17,39 L/m².h a 6,0 Bar e de 16,03 L/m².h 7,5 Bar) aos obtidos no presente estudo foram reportados por Carvalho (2004) na clarificação de suco de abacaxi hidrolisado por UF em membrana de PS de 50 kDa. Também foram observados fluxos menos elevados (13,43 L/m².h e 19,77 L/m².h) na clarificação por UF em membranas de PS de 100 kDa a pressões de 6,0 e 7,5 Bar, respectivamente. Nos dois processos foi observada queda abrupta nos minutos iniciais do processo e declínio contínuo até o final do mesmo. Porém, há que se considerar que as membranas utilizadas eram de configuração diversa (planas), o que promove rápida compactação de material insolúvel sobre a superfície das membranas reduzindo, conseqüentemente, o fluxo de suco permeado.

Fluxos ainda menos elevados (5,0 L/m².h) foram observados por Mirsaedghazi e col. (2010) na clarificação de suco de romã em membranas planas de celulose (0,22 µm) em sistema quadro e placas, além da diminuição do fluxo no início do processo. O mesmo fenômeno foi observado por Carvalho (2004) quando utilizou membranas de mesma configuração (plana).

Queda abrupta ou declínio constante do fluxo do início até o final dos processos, sem danos a membrana, foram mencionados em todos os trabalhos pesquisados.

O fluxo tem como dependentes o processo (MF ou UF), a membrana utilizada, a pressão aplicada e a hidrólise enzimática, prévia ou não. Porém, a diminuição do fluxo é consequência da composição da polpa a ser clarificada (pectina, celulose, hemicelulose e outros compostos de alto peso molecular) que é considerada relevante na formação inevitável

de camada polarizada ou entupimento dos poros da membrana (RAI, MAJUNDAR e GUPTA, 2005).

Sabe-se que quanto menor o tamanho da partícula, maior o risco de entupimento e bloqueio interno do poro da membrana o que pode levar à obstrução irreversível, inviabilizando-a, devendo, a seguir, ser realizada a limpeza da(s) membrana(s). Por outro lado, partículas de maior tamanho polarizam a superfície da membrana provocando também queda do fluxo, característica típica do *fouling* (MAGALHÃES *et al.*, 2005). No entanto, com exceção de Carvalho (2004) e Viana (2010), análises do tamanho de partículas dos sucos clarificados não foram realizadas, assim como não foram realizados estudos microscópicos nas membranas nos estudos mencionados, o que permitiria maior compreensão dos mecanismos de transporte envolvidos nos fenômenos acima reportados.

Estudos sobre os fatores que predisõem ao *fouling* têm concluído que o mecanismo de formação do fenômeno difere em função do tamanho ou diâmetro do poro da membrana.

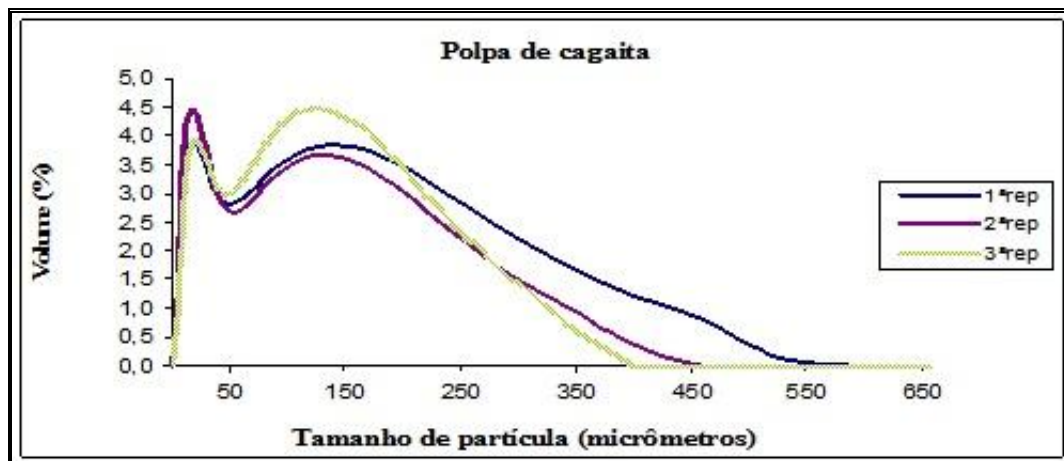
Assim, para membranas com maior tamanho ou diâmetro de poro a incrustação se inicia por adsorção de moléculas no interior do poro provocando redução do tamanho, diminuindo o fluxo de suco permeado, seguido da formação de camada aderente na superfície da membrana, obstrução subsequente do poro e o *fouling* como consequência, sendo quase sempre irreversível. Nestes casos, procedimentos de retrolavagem, onde há inversão de fluxo (do clarificado para o retentado) por curto período de tempo, lavagens constantes e procedimento de limpeza podem ajudar a preservar e recuperar a vida útil da membrana (TRACY e DAVIS, 1994; HO e ZYDNEY, 2000; ANDO *et al.*, 2011). Entretanto, o sistema PROTOSEP IV da Koch *Industries*, utilizado no presente estudo não possui o sistema de retrolavagem, inviabilizando o uso dessa manobra.

O declínio não acentuado, mas constante, observado no presente estudo, pode, portanto, ser atribuído ao depósito de partículas na superfície da membrana formando camada de polarização, favorecida pelo aumento da viscosidade da polpa de cagaita concentrada, considerando que não houve modificação de pressão nem tratamento enzimático prévio, justificando as diferenças entre o fluxo inicial e final obtidos (FUJITA e YAMAGUCHI, 2007; FUJITA e YAMAGUCHI, 2008; ANDO *et al.*, 2010).

4.1.3. Tamanho de partículas da polpa integral de cagaita:

A frequência do tamanho das partículas da polpa de cagaita pode ser observada no Gráfico 3. O tamanho, diâmetro ou volume total de distribuição das partículas da polpa de

cagaita variou de 25 a 550 μm . Partículas na faixa de 25 a 49 μm foram observadas em percentuais menos elevados (2,5 a 4%) comparadas ao percentual elevado de partículas entre 50 e 350 μm . Partículas entre 350 e 550 μm também foram identificadas, porém em baixo percentual, indicando, ainda, a presença de nanopartículas com frequência muito baixa (cerca de 0,1%).



rep: repetição

Gráfico 3. Tamanho de partículas da polpa de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC).

Embora em menor percentual, as nanopartículas presentes no suco de cagaita integral podem ser consideradas responsáveis pela obstrução dos poros da membrana uma vez que permeiam livremente a mesma e, segundo Fujita e Yamaguchi (2007), à medida que são adsorvidas à superfície da membrana, forças de contato e atração entre as partículas promovem ligações entre elas obstruindo o poro. Estes mesmos autores estudaram o *fouling* a partir da simulação da concentração coloidal de nanopartículas através das interações de contato sólido, incluindo forças de atrito entre as nanopartículas e descreveram a dinâmica da agregação provocada por elas. Em trabalhos subsequentes (FUJITA e YAMAGUCHI, 2008; ANDO *et al.*, 2010) foram discutidas a agregação e a dispersão dessas moléculas e o desenvolvimento de um modelo de simulação denominado “beco sem saída” para maior compreensão do *fouling*.

Não foi encontrado na literatura consultada qualquer resultado referente a análises do tamanho de partículas em polpa de cagaita ou suco da fruta para comparação.

O presente estudo corrobora os resultados encontrados por Viana (2010) ao reportar tamanhos de partículas na faixa de 0 a 400 μm , com maior concentração entre 100 a 300 μm em sucos de lima ácida (*Citrus latifolia*, Tanaka), cv. Tahiti de cultivos convencional e orgânico biodinâmico, sem tratamento enzimático prévio com redução da viscosidade e da turbidez pós-processamento, com a mesma membrana.

Cardoso e col. (2012) avaliaram o efeito da hidrólise enzimática na luminosidade da polpa de cagaita com pectinase comercial, nas seguintes condições: tempo de incubação (60 e 120 minutos), temperatura (32 a 47 °C), concentração de enzima (122,5-307,5 $\mu\text{l/L}$) e agitação (30-90 rpm). Os melhores resultados foram obtidos com a polpa de cagaita a $47 \pm 0,5$ °C, concentração de enzima de 122,5 $\mu\text{l/L}$, no tempo de incubação de 120 minutos, a 90 rpm, considerando que o tratamento enzimático é eficaz na obtenção de melhores fluxos na clarificação por processos de membrana e na luminosidade.

A polpa de cagaita clarificada (Figura 18 - C) apresentou aspecto límpido e sem partículas em suspensão o que comprova, assim como encontrado por outros autores, a eficiência do processo de microfiltração na redução da turbidez do suco em relação a polpa utilizada na alimentação e o concentrado remanescente do processo (Figura 20 – A e B) (CARVALHO, 2006, VIANA, 2010).

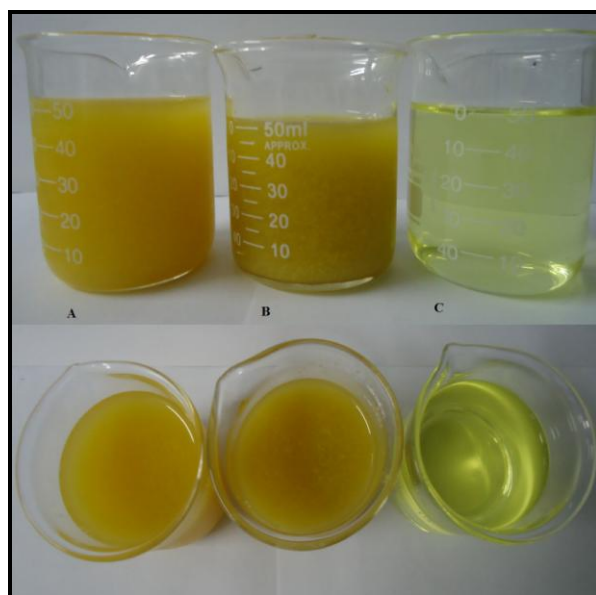


Figura 20. Polpas de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC): **A** – Integral; **B** – Concentrada (retentado) e **C** – Clarificada.

O tratamento enzimático é muitas vezes empregado para reduzir a viscosidade e a turbidez de sucos e polpas de frutas e outros vegetais. Suco de abacaxi (*Ananas comosus* L. Merrill), cv. Pérola, analisado por Carvalho (2004) apresentou tamanhos de partículas muito menores que os encontrados na polpa de cagaita, na faixa de 0,16 a 0,32 μm pré-tratamento enzimático e com maior frequência de partículas na faixa de 0,16-0,22 μm pós-tratamento enzimático, apresentando-se límpidos e sem partículas após a clarificação com membranas de UF e MF de diferentes tamanhos de poro. Carvalho e col. (2006), Silva e col. (2005) e Pallet e col. (2005) também utilizaram tratamento enzimático prévio para observar a redução da turbidez em sucos de limão (*Citrus limon*, L. Burn.), de maracujá (*Passiflora edulis*) e de laranja, respectivamente.

Portanto, pode-se dizer que o processamento da polpa de cagaita por MF com membrana tubular de PES de 0,3 μm , foi eficiente para promover a redução da viscosidade e turbidez no suco clarificado sem tratamento enzimático prévio.

4.2. Microbiologia

Os resultados das análises microbiológicas das polpas integral e concentrada e do suco clarificado encontram-se na Tabela 3. Todas as amostras apresentaram valores dentro do preconizado pela legislação brasileira vigente quanto a coliformes totais e fecais e bolores e leveduras (<10 UFC/mL), bem como ausência de *Salmonella sp.*

Tabela 3. Qualidade microbiológica das polpas integral, concentrada e clarificada de cagaita.

Amostras	Coliformes Totais (UFC/mL)	Coliformes Fecais (UFC/mL)	Bolores e Leveduras (UFC/mL)	<i>Salmonella sp.</i> (Ausência em 25 g ou mL)
PCI	< 10	< 10	< 10	Ausência
PCR	< 10	< 10	< 10	Ausência
PCC	< 10	< 10	< 10	Ausência

PCI – polpa de cagaita integral.

PCC – polpa de cagaita clarificada.

PCR – polpa de cagaita concentrada.

Frutas e polpas de frutas são alimentos ácidos, o que restringe a microbiota responsável por sua deterioração, principalmente os microrganismos causadores de doenças.

A microbiota, normalmente encontrada nesses alimentos é composta por bolores, leveduras, bactérias lácticas e outros microrganismos ácido-tolerantes. A contaminação microbiana geralmente é resultado das condições de colheita da matéria-prima e higiênico-sanitárias do processamento a que são submetidas (SIQUEIRA e BORGES, 1997).

A polpa de cagaita utilizada no presente estudo é produzida por prensagem e espremedura em peneira, artesanalmente. A baixa contagem microbiana encontrada na polpa de cagaita pode ser atribuída em parte à boa qualidade da matéria prima adquirida refletindo as boas condições de seu processo de obtenção, uma vez que não foram identificadas contaminações. Certamente, o congelamento subsequente à obtenção da polpa de cagaita, também auxiliou na manutenção da carga microbiana reduzida contribuindo para os resultados obtidos (FRANCO e LANDGRAF, 2003).

Resultados similares ao presente estudo foram encontrados por Santos e col. (2004) na análise microbiológica de polpa congelada de cupuaçu, encontrando contagens de bolores e leveduras e coliformes inferiores a 10 UFC.g¹ e ausência de *Salmonella* em 25 g de polpa. Freire e col. (2009) descreveram resultados semelhantes também em polpa de cupuaçu congelada.

Bueno e col. (2002) avaliaram a qualidade microbiológica de 15 marcas de frutas tropicais congeladas, concluindo que todas atendiam a legislação brasileira vigente.

Viana (2010) em estudo sobre a capacidade antioxidante de sucos de lima ácida (*Citrus latifolia*, Tanaka), cv. Thaiti, de cultivos orgânico e convencional, encontrou para contagem de bolores e leveduras valores inferiores a 10 UFC/mL e ausência de *Salmonella sp.* no suco integral, resultados estes semelhantes aos encontrados no presente estudo.

Contudo, Lima, Martins e Silva (2001) constataram que 25% do total de 43 amostras comerciais de polpas de diversas frutas congeladas encontravam-se fora do padrão preconizado pela legislação brasileira.

No presente estudo a polpa de cagaita utilizada na alimentação do sistema de MF não apresentava contaminação, bem como a polpa clarificada, o que possibilita afirmar que o processo de MF também preservou a integridade do produto obtido pós-processo.

Muitos estudos comprovam a eficiência do processo de MF no controle microbiológico promovendo a esterilização a frio, especialmente quando são usadas membranas com poro menor ou igual a 0,2 µm (VAILLANT *et al.*, 2001). Carneiro e col. (2002) obtiveram esterilidade comercial a frio em suco de abacaxi cv. Smooth Cayenne clarificado por MF utilizando membrana de PES com abertura de poro de 0,3 µm.

Posteriormente, Carvalho (2004) corroborou esses resultados ao obter a esterilidade comercial de suco de abacaxi cv. Pérola nas mesmas condições de processo e também utilizando membrana de MF de PS e de UF de PVdF com tamanhos de poro de 0,1 μm e *cut off* de 30-80, 50 e 100 kDa, respectivamente.

Portanto, o resultado obtido na análise microbiológica revelou que o processo foi realizado em boas condições higiênico-sanitárias tendo em vista que não ocorreu contaminação da polpa clarificada.

4.3. pH, sólidos solúveis (°Brix) das polpas de cagaita integral, concentrada e clarificada por MF

Na Tabela 4 podem ser observados os valores de sólidos solúveis (°Brix) e pH das polpas integral e concentrada, remanescente do processo de MF, e da polpa de cagaita clarificada.

Tabela 4. pH e sólidos solúveis das polpas de cagaita integral, clarificada e concentrada, por MF.

Amostra	pH	Sólidos Solúveis (°Brix)
Polpa Integral	3,04 ^a	8,23 ^a
Clarificada	2,75 ^b	6,70 ^b
Concentrada	3,00 ^c	8,00 ^c

Resultados expressos por média de três repetições.

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística ($P < 0,05$) ANOVA.

O baixo valor de pH ($3,04 \pm 0,01$) permitiu classificar a polpa integral de cagaita analisada como um produto ácido, o que contribui para sua conservação uma vez que a seletividade quanto a microrganismos é maior nesta faixa de pH (Leitão, 1998). No entanto, a polpa analisada possui acidez menos elevada comparada à polpa de cagaita proveniente da cidade de Goiânia (pH 2,8) analisada por Roesler e col. (2007) e corroborado por Silva, Junior e Ferreira (2008), o que indica que encontrava-se em estágio ótimo de maturação. Estes últimos pesquisadores verificaram aumento no pH do fruto maduro (2,96) em relação ao fruto verde (2,84), sendo o pH indicativo de estágio de maturação.

Silva, Junior e Ferreira (2008) também avaliaram o comportamento do pH da polpa de cagaita congelada por um período de 4 meses, encontrando variações de 3,06-3,17 porém, a análise estatística não foi realizada para verificar se os resultados foram ou não significativos. Ainda estudaram o comportamento do pH no refresco de cagaita mantido sob refrigeração por 24 h, encontrando sutil variação de 3,18-3,15. Nos dois casos, o pH é menos ácido do que o da polpa analisada no presente estudo.

Quando comparada ao pH de 3,27 da polpa de pitanga (*Eugenia uniflora* L.), pertencente à mesma família Myrtaceae, analisada por Lopes, Mattietto e Menezes (2005), a polpa de cagaita é considerada mais ácida. Os pesquisadores avaliaram, também, a estabilidade dos componentes da polpa de pitanga conservada, sob congelamento, encontrando aumento progressivo significativo ($P < 0,05$) no pH (3,27 – 3,40) durante o período de estocagem.

A polpa da cagaita apresentou teor de sólidos solúveis de 8,23 °Brix ($\pm 0,01$), demonstrando ser mais doce que o fruto da cagaita (7,2 °Brix), proveniente da mesma região, analisado anteriormente por Ribeiro e col. (2010). A polpa de cagaita integral analisada no presente estudo ainda pode ser considerada levemente mais doce do que aquela (8,0 °Brix) analisada por Silva, Junior e Ferreira (2008), que também não encontraram variação do teor de sólidos solúveis durante o estágio de maturação.

Contudo, a polpa de cagaita não é considerada muito doce quando comparada à polpa da pitanga (*Eugenia uniflora* L.), cujas polpas congeladas em diferentes períodos de estocagem apresentaram teores de sólidos solúveis variando entre 11,47 e 10,73 °Brix (LOPES, MATTIETTO e MENEZES, 2005).

Os valores de pH e sólidos solúveis apresentaram diferença significativa ($P < 0,05$) entre as polpas analisadas (integral, concentrada) e a polpa clarificada. A polpa de cagaita utilizada no presente estudo foi obtida por processo artesanal, no qual a etapa de despolpamento e refino não foi realizada, resultando na presença de grande quantidade de partículas insolúveis. Embora tenha sido peneirada, antes de sua clarificação, pode-se afirmar ao se avaliar o teor de sólidos solúveis da polpa concentrada (retentado) que ocorreu deposição paulatina na superfície da membrana ao longo do processo de MF.

Por outro lado, o °Brix de 8,0 da polpa concentrada foi bem semelhante ao teor de sólidos solúveis da polpa integral utilizada na alimentação, o que permite agregar valor econômico ao produto concentrado remanescente do processo, o que viabiliza a MF para o

processamento de polpa de cagaita de modo promissor em escala industrial com seu aproveitamento na elaboração de novos produtos (VAILLANT *et al.*, 2001).

O teor de sólidos solúveis na polpa concentrada se explica pelo *fouling* ocorrido no processo, caracterizado pela deposição de partículas insolúveis na superfície e ou no interior do poro da membrana, o que promoveu ao longo do tempo, sua saturação evidenciada pelo leve declínio no fluxo do processo.

Por outro lado, a polpa clarificada apresentou 81,31% do teor de sólidos solúveis, o que pode ser considerado bastante promissor em termos de recuperação de constituintes. Apesar de ter ocorrido o fenômeno de *fouling*, os açúcares presentes na polpa foram pouco retidos pela membrana, provavelmente pelo seu menor peso molecular.

Menores valores de pH e sólidos solúveis nos sucos clarificados de lima ácida de cultivos convencional (suco integral: pH 2,7 e 8,5 °Brix; suco clarificado: pH 2,40 e 6,40 °Brix) e orgânico biodinâmico (suco integral: pH 2,75 e 7,2 °Brix; suco clarificado: pH 2,60 e 5,60 °Brix) foram reportados por Viana (2010), após processamento por MF em membrana tubular de PES igual a utilizada no presente estudo. Porém, há que se considerar que a acidez de sucos cítricos como os de lima ácida é elevada.

Suco de maracujá orgânico hidrolisado previamente foi clarificado por MF com membrana de PES com tamanho de poro de 0,3 µm e área de permeação de 0,05 m² por Silva e col. (2005), apresentando o mesmo perfil na polpa concentrada (3,07 pH e 13,41 °Brix) e na polpa clarificada (3,04 pH e 13,32 °Brix) quando comparado à polpa integral (3,10 pH e 14,23 °Brix).

Castro, Abreu e Carioca (2007) também reportaram redução de sólidos solúveis no suco clarificado (9,87 °Brix) em relação ao suco integral (10,50 °Brix) no suco de caju previamente hidrolisado e clarificado em membrana de cerâmica de MF (poro de 0,1 mm e área de 0,005 m²) e em membrana de PVdF de UF (*cut off* de 30-80 kDa e área de 0,05 m²).

Entretanto, Cianci e col. (2005) ao clarificarem, por MF, suco de caju previamente hidrolisado, utilizando membrana de PES de 0,3 µm de poro e área de permeação de 0,05 m², observaram leve redução no pH do suco concentrado (4,06) em relação ao suco clarificado (4,19) e ao suco integral (4,23). Os teores de sólidos solúveis do suco clarificado foram menores (12,1 °Brix) comparados ao suco integral, enquanto que o suco concentrado apresentou concentrações mais elevadas (12,5 °Brix), o que pode ser esperado.

Matta, Cabral e Silva (2004) encontraram pH mais elevado que os encontrados no presente estudo para suco integral de acerola e menor no suco clarificado, porém, quando

avaliaram os teores de sólidos solúveis (8,3 e 8,9 °Brix) encontraram maiores teores no suco concentrado remanescente do processo de MF em relação a polpa integral (7,4 e 8,6 °Brix), utilizando membrana de PES (0,3 µm de poro e área de permeação de 0,05 m² a a 1,2 Bar).

Na literatura consultada, houve queda do fluxo de permeado referente à polarização da membrana e ao *fouling*, tanto no início quanto ao longo do processo. No presente estudo a queda do fluxo foi contínua e pouco acentuada, o que permite concluir que maiores teores de sólidos solúveis são retidos pela membrana, na polpa ou suco concentrado, devido principalmente ao fenômeno de polarização.

4.4. Composição centesimal aproximada das polpas de cagaita integral, concentrada clarificada por MF

A composição centesimal aproximada (umidade, lipídios, proteínas, carboidratos totais e cinzas) das polpas de cagaita integral, concentrada e clarificada pode ser observada na Tabela 5. Pode-se verificar que a polpa integral de cagaita é constituída basicamente por água e carboidratos possuindo baixo valor calórico.

Tabela 5. Composição centesimal aproximada das polpas de cagaita integral, concentrada e clarificada por MF (g/100 g).

Amostra	Cinzas	Umidade	Lipídios	Proteínas	Carboidratos*	Kcal
Polpa integral	0,28 ^a	93,14 ^a	0,026 ^a	0,67 ^a	5,89 ^a	26,43 ^a
Clarificada	0,19 ^b	95,05 ^b	0,012 ^b	0,71 ^a	4,03 ^b	23,95 ^b
Concentrada	0,18 ^b	93,82 ^c	0,025 ^a	0,74 ^a	5,23 ^c	19,08 ^c

Valores médios de três determinações.

* carboidratos por diferença

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística ($P < 0,05$) ANOVA.

A polpa analisada no presente estudo apresentou similaridade no teor de cinzas com relação à polpa integral, obtida em laboratório por Silva e col. (2008), de frutos de cagaita colhidos em Goiânia, GO (0,28 g/100 g de cinzas). Quando comparado à polpa produzida em Felixlândia, MG (0,18 g/100 g de cinzas) por Cardoso e col. (2011), o teor de cinzas foi mais elevado (0,28 g/100 g).

Entretanto, os teores de minerais da polpa de cagaita analisada neste estudo são consideravelmente menores que aqueles encontrados em nove frutos do Cerrado, entre eles a

mangaba, o murici e o araçá, sendo maiores apenas em comparação a gabioba (SILVA *et al.*, 2008).

O conteúdo de umidade da polpa de cagaita utilizada no presente estudo foi menos elevado quando comparado ao das polpas de Goiânia, GO (94,34%), analisadas por Silva e col. (2008) e, ainda menor, comparado ao da polpa analisada por Martinotto e col. (2008) (95,1%).

A polpa de cagaita utilizada neste estudo apresentou teores mais elevados de proteínas em relação à polpa de cagaita (0,63 g/100 g) proveniente de MG (CARDOSO *et al.*, 2011) e menores teores em relação à polpa (0,82 g/100 g) proveniente de Goiânia (SILVA *et al.*, 2008). Em relação a outros frutos do Cerrado, os teores de proteínas da polpa de cagaita deste estudo são maiores que os do araçá, gabioba e murici (SILVA *et al.*, 2008).

O teor de lipídios foi bem menor na polpa de cagaita analisada neste estudo comparado ao reportado por Cardoso e col. (2011) para a polpa proveniente do estado de MG (0,57 g/100 g). Em comparação a outros frutos do Cerrado avaliados por Silva e col. (2008), os teores de lipídios encontrados na polpa de cagaita do presente estudo são consideravelmente inferiores.

Teores mais elevados de carboidratos (5,89 g/100 g) foram observados na polpa de cagaita do presente estudo em comparação com as produzidas em Goiânia, GO (3,08 g/100 g) (SILVA *et al.*, 2008) e em Felixlândia, MG (5,54 g/100 g) (CARDOSO *et al.*, 2011). Em comparação a nove frutos nativos do Cerrado, entre eles o chichá, a macaúba e a pitomba, os teores de carboidratos encontrados na polpa de cagaita da presente dissertação são consideravelmente inferiores (SILVA *et al.*, 2008).

A variação dos teores de proteínas, lipídios e carboidratos entre as amostras justifica as diferenças do valor calórico. Assim, a polpa analisada por Silva e col. (2008) possui menor teor calórico (20,01 kcal/ 100 g) que os encontrados na polpa de cagaita deste estudo, enquanto que a polpa de MG apresentou valor calórico mais elevado (29,83 kcal/100 g) (CARDOSO *et al.*, 2011). Em comparação a outros frutos do Cerrado, a polpa de cagaita é a menos calórica (SILVA *et al.*, 2008).

A polpa de cagaita clarificada apresentou maiores teores de proteínas e % de umidade em relação à polpa integral. O teor mais elevado de água na polpa clarificada era esperado em virtude do menor teor dos sólidos solúveis presentes nessa fração, confirmando o que Viana (2010) observou após a clarificação de suco de lima ácida.

O teor de carboidratos na polpa clarificada foi inferior ao da polpa integral, podendo-se considerar a possibilidade de moléculas insolúveis, como polissacarídeos terem sido responsáveis pelo entupimento dos poros da membrana. Laorko e col. (2010) também observaram entupimento dos poros (0,2 μm) de membrana de PS na clarificação de suco de abacaxi previamente hidrolisado. Barros e col. (2003) atribuem o entupimento dos poros de membranas ocorrido na clarificação de sucos de frutas, por UF e MF, a compostos da parede celular como polissacarídeos, tais como pectina, celulose de lignina e hemi-celulose. Ando e col. (2010), Fujita e Yamaguchi (2008) e Fujita e Yamaguchi (2007) relacionam maior suscetibilidade de entupimento às membranas com maior tamanho de poro.

Viana (2010) observou menores teores de carboidratos nos sucos clarificados de lima ácida de cultivo convencional e orgânico biodinâmico em relação aos sucos integrais, nas mesmas condições utilizadas no presente estudo, ou seja, sem hidrólise enzimática prévia com o mesmo tipo de membrana de PES.

Entretanto, os teores de carboidratos bem como de sólidos solúveis do suco clarificado demonstram que açúcares menos complexos como a glicose, frutose e a sacarose passaram pela membrana. Embora a identificação desses açúcares não tenha sido o alvo deste estudo, esse achado possui importância em termos de processamento da polpa de cagaita e deve ser investigado.

Os teores de açúcares encontrados no suco de cagaita do presente estudo foram inferiores aos reportados por Carvalho, Castro e Silva (2008) ao clarificarem suco de abacaxi hidrolisado com membranas de MF de PES com diâmetro de poro de 0,3 μm e área de 0,05 m^2 a pressão de 1,5 e 3,0 Bar, semelhante à utilizada neste estudo, e também por UF com membrana de PS com *cut off* de 30-80 kDa e área de 0,05 m^2 .

Castro, Abreu e Carioca (2007) também obtiveram considerável teor de açúcares (8,88 g/100 g na MF com membrana de cerâmica de 0,1 μm e área de 0,005 m^2 e 8,68 g/100 g na UF com de PVDF com *cut off* de 30-80 kDa e área de 0,05 m^2) no clarificado da polpa de caju hidrolisada previamente em relação à polpa integral (9,15 g/100 g).

Os teores de lipídios foram consideravelmente reduzidos na polpa clarificada em relação à integral. Entretanto, os teores na fração retida dão indícios de que esses compostos não foram os principais responsáveis, enquanto macromolécula, pela polarização da membrana e sua conseqüente ruptura. O mesmo comportamento do teor de lipídios foi observado por Viana (2010) na clarificação de lima ácida. Considerando que são compostos de maior peso molecular, a barreira seletiva imposta pela membrana, bem como a possível

camada polarizada formada em função do tempo do processo, podem ter sido responsáveis pelos menores teores obtidos no suco clarificado ou, ainda, podem ter sido adsorvidos por interações com a mesma.

Houve redução do teor de cinzas na polpa clarificada comparada à integral. Essa redução é esperada em função das mesmas condições de processo mencionadas anteriormente para carboidratos e lipídios (WANG, WEI e YU, 2005), confirmando os achados de outros autores como Matta, Cabral e Silva (2004) e Viana (2010).

Dos três macronutrientes analisados, as proteínas são compostos de maior peso molecular, o que justifica teores reduzidos na fração clarificada por processos com membranas, como reportados por Gao, Beveridge e Reid (1997) na clarificação de suco de maçã e Viana (2010) no processamento do suco de lima ácida.

Os teores de proteínas menos elevados na polpa clarificada em comparação aos da polpa integral de cagaita são também responsáveis pela redução da viscosidade, da turbidez e pela elevada luminosidade apresentada pelos sucos clarificados, parâmetros esses não analisados no presente estudo, mas não menos importantes (CIANCI *et al.*, 2005; CASTRO, ABREU e CARIOCA, 2007).

Entretanto, no presente estudo o que pode justificar o teor de proteínas mais elevado na polpa clarificada, seria o rompimento dos poros internos da membrana em função da polarização de concentração e, conseqüentemente, sua passagem. A análise da membrana por microscopia eletrônica poderia auxiliar a compreensão dos fatores que afetaram a formação do *fouling* neste processo (REIDL, LENCK e GIRARD, 1996).

Outra forma de confirmar esta hipótese seria determinando a vida de prateleira da polpa clarificada, tendo em vista que proteínas afetam a luminosidade, a viscosidade e a qualidade do suco ou polpa (LAORKO *et al.*, 2010).

4.5 Identificação e quantificação dos carotenoides das polpas de cagaita integral, concentrada e clarificada por MF

4.5.1. Carotenoides totais

Os teores de carotenoides totais, α -caroteno, β -caroteno e isômeros cis do β -caroteno, β -criptoxantina, luteína e zeaxantina identificados na polpa de cagaita são encontrados na Tabela 6.

Tabela 6. Carotenoides totais, α -caroteno, β -caroteno e isômeros, β -criptoxantina, luteína e zeaxantina ($\mu\text{g/g}$) da polpa de cagaita de acordo com o método de extração.

Amostras	Totais	β -caroteno	9-cis- β -caroteno	13-cis- β -caroteno	β -criptoxantina	α -caroteno	Luteína	Zeaxantina
Polpa integral	8,22 ^a ± 0,06	0,97 ^a ± 0,08	Nd	Nd	0,35 ^a ± 0,01	Nd	1,81 ^a ± 0,12	1,99 ^a ± 0,05
Polpa integral saponificada	5,83 ^b ± 0,52	1,70 ^b ± 0,18	0,20 ± 0,01	0,09 ± 0,01	1,49 ^b ± 0,11	0,18 ± 0,16	0,85 ^b ± 0,01	0,79 ^b ± 0,02

Valores médios de três determinações.

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística ($P < 0,05$) ANOVA.

Nd: Não detectado.

Houve diferença significativa ($P < 0,05$) nos teores de carotenoides totais em função da etapa de saponificação. A etapa de saponificação se fez necessária para facilitar a identificação dos diferentes carotenoides. O teor médio de carotenoides totais encontrado na polpa extraída sem a etapa de saponificação foi de 8,22 $\mu\text{g/g}$. Houve diminuição de 29% nos teores de carotenoides totais da polpa submetida à etapa de saponificação (5,83 $\mu\text{g/g} \pm 0,18$). Essa diminuição já era esperada e pode ocorrer em função da temperatura de execução das análises, e ainda pelo tempo de exposição do pigmento ao álcali (MERCADANTE, 1999; PENTEADO, 2003). No caso específico do presente estudo, somente o tempo de exposição ao álcali pode ser considerado o responsável pela diminuição dos teores de carotenoides totais uma vez que a amostra não foi submetida ao aquecimento. Isso ocorre porque embora os carotenoides sejam estáveis na matriz do fruto, quando isolados não mantêm sua estabilidade por serem altamente insaturados (PENTEADO, 2003; RODRIGUEZ-AMAYA e KIMURA, 2004).

Menores teores de carotenoides após a etapa de saponificação foram também observados por Zanatta (2004), em estudo da composição de carotenoides e antocianinas de camu-camu (*Myrciaria dubia*). Embora o percentual de perda não tenha sido mencionado, perdas consideráveis foram atribuídas a maiores percentuais de concentração da solução de álcali, sendo a menor perda atribuída a concentração de 10%, semelhante à utilizada no presente estudo.

Têm sido reportadas perdas de carotenoides totais, após a saponificação, por vários autores em diversas matrizes vegetais (KIMURA, RODRIGUEZ-AMAYA e GODOY, 1990; ALMEIDA-MURADIAN, POPP E FARIAS, 1997; RISO e PORRINI, 1997; SÁ e RODRIGUEZ-AMAYA, 2004). Entretanto, as maiores perdas são reportadas quando a amostra é submetida a aquecimento por evaporação na etapa de saponificação (KIMURA, RODRIGUEZ AMAYA e GODOY, 1990). Com isso, pode-se afirmar que perdas ainda maiores foram minimizadas no presente estudo considerando que a amostra não foi submetida a aquecimento nessa etapa e a concentração da solução foi de 10%.

Tendo como premissa que a etapa de saponificação foi necessária e indispensável somente para a identificação dos carotenoides presentes na polpa de cagaita, o teor de carotenoides totais real da polpa a ser considerado é o da extração sem a etapa de saponificação conforme pôde ser observado na Tabela 6.

Os teores de carotenoides totais encontrados no presente trabalho são menores do que os reportados por Carvalho e col. (2009) em estudos preliminares na polpa de cagaita de mesma procedência da polpa analisada no presente estudo. Os teores estudados por estes autores que mais se aproximaram do presente estudo foram de 14,49 $\mu\text{g/g}$ ($\pm 0,063$) de carotenoides totais em polpa comercial de cagaita. As maiores diferenças encontradas se referem a 29,64 $\mu\text{g/g}$ ($\pm 4,02$) para polpa fresca extraída com a casca e 25,98 $\mu\text{g/g}$ ($\pm 1,53$) para polpa fresca sem casca. Estes teores, encontrados por estes autores, forneceram dados promissores quanto a sua utilização tecnológica.

Considerando que as polpas são de mesma procedência e, presumivelmente, condições de crescimento (de ocorrência natural) e tipos de solo similares foram utilizados na produção dos frutos, acredita-se que diferenças no estágio de maturação, obtenção (por não ser um processo tecnologicamente controlado) e, ainda, o tempo de armazenamento do produto congelado antes da análise, justifiquem as diferenças encontradas.

Aumentos nos teores de carotenoides totais são, normalmente, observados em função do amadurecimento; conseqüentemente, frutas ou polpas de frutas apresentam maiores teores de carotenoides quando colhidas maduras. Esses aumentos foram relatados por Mercadante e Rodriguez-Amaya (1998) e Porcu e Rodriguez-Amaya (2008), em manga e pitanga, respectivamente, ao analisarem as frutas verdes, parcialmente maduras e maduras. Ainda em relação à manga, foram observados teores de carotenoides totais mais elevados nas frutas colhidas no período final de safra (MANTHEY e PERKINS-VEAZIE, 2009). Rosso e Mercadante (2005) encontraram diferenças no teor de carotenoides totais ao analisarem frutos

de acerola de safras diferentes (2003 e 2004) produzidas comercialmente no estado de São Paulo, observando teores mais elevados em ambos os frutos da segunda safra, relacionado a temperaturas mais elevadas e menor precipitação pluviométrica. Assim, embora a data de colheita dos frutos de cagaita que originaram a polpa utilizada neste estudo seja conhecida (ocorrida no final da safra, no mês de novembro de 2009), o desconhecimento do período de colheita dos frutos que originaram as polpas analisadas por Carvalho e col. (2009) inviabilizam maiores discussões.

Perdas substanciais de carotenoides foram descritas por Rodriguez-Amaya (2002), inclusive maiores do que as relacionadas ao processamento térmico e creditadas à produção de polpas e sucos, uma vez que o corte e a trituração acarretam liberação de enzimas que catalisam a oxidação, além de aumentarem sua exposição ao oxigênio. Hamano e Mercadante (2001) referem teores de carotenoides totais inferiores aos do fruto para produtos comerciais de cajá como polpa e suco pasteurizado.

A atividade de enzimas oxidativas liberadas após a obtenção de polpas e sucos de frutas é responsável pelas perdas de carotenoides totais durante a estocagem por congelamento. Embora tenham sua atividade reduzida, estudos em polpas de pitanga e acerola comprovam que sua atividade não é totalmente interrompida durante a estocagem por congelamento. A inativação dessas enzimas é atingida por branqueamento (CAVALCANTE, 1991; CAVALCANTE e RODRIGUEZ-AMAYA, 1992; LOPES, MATTIETTO e MENEZES, 2005), etapa que não foi realizada na obtenção da polpa analisada no presente estudo.

Nos estudos supracitados, perdas de 15 a 30% são reportadas a partir de 30 a 90 dias, sendo o maior percentual ocorrido no primeiro mês de estocagem. É possível que perdas tenham ocorrido em decorrência desses fatores, uma vez que a estabilidade dos carotenoides da cagaita ainda não foi estudada e, ao considerarmos que a polpa utilizada no presente estudo permaneceu armazenada, sob congelamento, por seis meses antes do início das análises. Entretanto, esse fato, apesar de influir no valor quantitativo encontrado na polpa estudada, não diminui a relevância do presente trabalho nem fere seu objetivo principal que é conhecer os carotenoides da polpa e a retenção destes após o processo de microfiltração por membranas.

Considerando o acima exposto, torna-se importante verificar futuramente quais seriam as diferenças no teor de carotenoides totais da cagaita em diferentes estágios de maturação para melhor compreender as diferenças encontradas, inclusive considerando a variável clima

como um dos fatores influentes, bem como avaliar a estabilidade de carotenoides da polpa de cagaita durante o tempo de congelamento.

Diferentemente, os teores de carotenoides da polpa de cagaita analisada no presente estudo foram superiores (8,22 µg/g) aos teores encontrados (7,7 µg/g) por Cardoso e col. (2011) em polpa de cagaita produzida na cidade de Felixlândia, Minas Gerais, obtida momentos antes da realização das análises. Essas diferenças podem ser atribuídas principalmente à localização geográfica de cultivo ou crescimento, além das condições mencionadas anteriormente.

Lima, Mélo e Lima (2002) encontraram teores de carotenoides totais mais elevados em duas variedades de pitanga (fruto pertencente à mesma família da cagaita) que variaram de 79 a 111 µg/g. Diferenças significativas ($P \leq 0,05$) nos teores de carotenoides totais foram descritas por Rosso e Mercadante (2005) ao analisarem duas variedades genéticas de acerola produzidas no estado de São Paulo, sendo maiores teores encontrados na cultivar *Olivier*.

Diferenças significativas ($P \leq 0,05$) em carotenoides totais entre cultivares também foram reportadas na avaliação de duas variedades de manga produzidas no estado de São Paulo, *Keitt* e *Tommy Atkins*, sendo maior na última e por Dhuique-Mayer e col. (2009) em cinco variedades de laranja produzidas em diferentes regiões (Mediterrâneo, áreas subtropicais e tropicais).

Independentemente do cultivar, a região de cultivo também influencia os teores de carotenoides das frutas. Porcu e Rodriguez-Amaya (2008) ao estudarem a variação da composição de carotenoides em pitanga indígena provenientes dos estados do Paraná (clima frio), São Paulo (clima temperado) e Pernambuco (clima quente), encontraram diferenças significativas ($P \leq 0,05$), sendo os teores mais elevados encontrados nos frutos produzidos em Pernambuco e valores intermediários encontrados nos frutos de São Paulo. Desta forma, as diferenças encontradas nos teores de carotenoides da polpa integral de cagaita analisada no presente estudo e na polpa fresca analisada por Cardoso e col. (2011) se justificam em função do maior teor se relacionar com a região de origem, uma vez que maiores teores são relacionados à maior exposição à luz solar (ROSSO e MERCADANTE, 2005).

Deve-se considerar ainda que a diferença nos teores de carotenoides totais entre as polpas produzidas em Felixlândia (MG) e Damianópolis (GO) devem ser ainda maiores, tendo em vista que a polpa analisada por Cardoso e col (2011) era fresca, ou seja, produzida momentos antes da análise, e a polpa analisada no presente estudo ficou armazenada por seis meses antes das análises.

As polpas analisadas no presente estudo apresentaram conteúdos inferiores (8,22 $\mu\text{g/g}$) quanto a carotenoides totais quando comparadas às amostras de polpa de maracujá amarelo analisadas por Silva e Mercadante (2002), que contêm teores entre 15,36 e 27,14 $\mu\text{g/g}$.

4.5.2. Carotenoides e isômeros identificados

Os carotenoides identificados na polpa de cagaita bem como seus respectivos teores podem ser observados na Tabela 6 no subitem 4.5.1. Os carotenoides identificados diferiram em função da saponificação ou não das amostras. Nas amostras não saponificadas foi possível identificar somente os picos referentes ao β -caroteno, β -criptoxantina, luteína e zeaxantina. Nessas amostras os picos referentes ao α -caroteno e isômeros 9 e 13-*cis*- β -caroteno não puderam ser identificados, assim como os teores reais do β -caroteno e da β -criptoxantina foram subestimados, como pode ser observado na Figura 21.

A saponificação elimina clorofilas e lipídios indesejados, além de hidrolisar ésteres de carotenoides, simplificando a identificação, separação e quantificação de carotenoides. As xantofilas presentes em frutas encontram-se esterificadas a ácidos graxos. Embora tenham sido encontrados baixos teores de lipídios na polpa do presente estudo, sabe-se que a cagaita possui elevados teores de ácidos graxos (MARTINOTTO *et al.*, 2008).

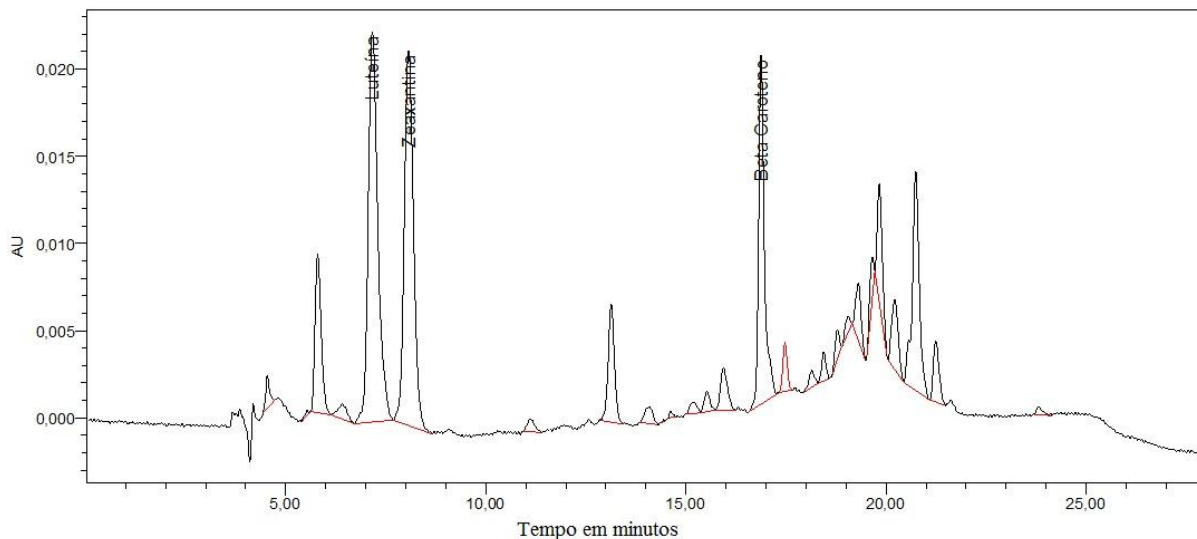


Figura 21. Cromatograma da polpa de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC) extraída sem a etapa de saponificação.

Entretanto, a exposição ao álcali pode causar reações indesejadas como a hidrólise de ésteres de carotenóis (xantofilas), condensação aldólica (reação que produz cetonas a partir de apocarotenais, além de desidratação entre outras reações) e consequente formação de inúmeros produtos indesejáveis como isômeros *cis*, epóxidos, entre outros (KIMURA, RODRIGUEZ-AMAYA e GODOY, 1990). Isso explica a identificação dos isômeros 9 e 13 *cis* do β -caroteno e os menores teores de carotenoides totais, de luteína e zeaxantina encontrados na polpa de cagaita submetida a etapa de saponificação. Contudo, os baixos teores dos isômeros *cis* encontrados, refletem a eficiência da extração.

A formação de isômeros e outros compostos indesejáveis após a saponificação também foi reportada por Zanatta (2004) na análise da polpa de camu-camu, tendo sido encontrados isômeros *cis* do β -caroteno (9-*cis*), do licopeno (9-*cis*), β -criptoxantina (9-*cis*), luteína (9 e 13-*cis*), violaxantina (9-*cis*), além de epóxidos do β -caroteno e de quase todas as xantofilas incluindo a β -criptoxantina, luteína e zeaxantina. Foi observada ainda a formação de compostos indesejáveis a partir de apocarotenoides (monohidroxilados).

No entanto, a presença dos isômeros 9 e 13-*cis* do β -caroteno não pode ser atribuída apenas à saponificação, mas também à exposição ao oxigênio, à luz, a enzimas oxidativas presentes no fruto e ativadas na obtenção da polpa e ao período de armazenamento, sob congelamento (CAVALCANTE e RODRIGUEZ-AMAYA, 1992; RODRIGUEZ-AMAYA, 2002; LOPES, MATTIETTO e MENEZES, 2005). Agostini-Costa, Abreu e Rossetti (2003) não identificaram isômeros *cis* do β -caroteno na polpa fresca de acerola, porém após 3 meses de estocagem detectaram 4,5% de 9-*cis* e 6,5% de 13-*cis*- β -caroteno.

Entre os aspectos positivos da saponificação estão a identificação do α -caroteno, além dos isômeros 9 e 13-*cis*- β -caroteno e, ainda, a possibilidade de distinguir o real teor do β -caroteno e da β -criptoxantina. Sendo assim, cinco carotenoides foram encontrados na polpa de cagaita no presente estudo: a luteína, a zeaxantina, a β -criptoxantina, o α -caroteno e o β -caroteno, além dos isômeros 9 e 13-*cis*- β -caroteno (Figura 22), sendo o β -caroteno e a β -criptoxantina os carotenoides mais abundantes, a luteína e a zeaxantina os carotenoides intermediários e o α -caroteno o carotenoide minoritário (Tabela 6 no subitem 4.5.1.).

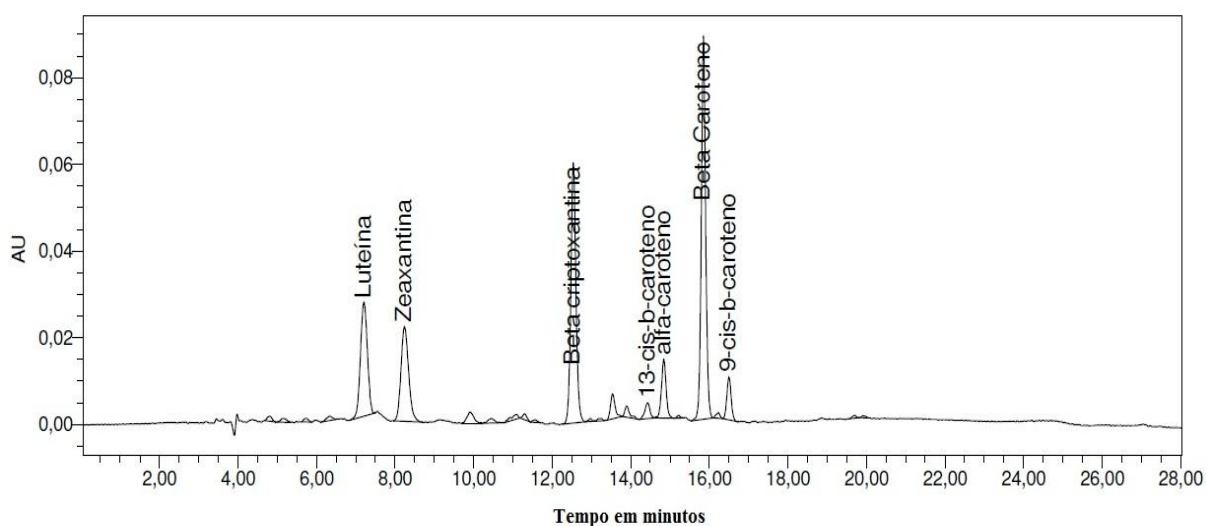


Figura 22. Cromatograma da polpa de cagaita extraída e saponificada.

Perfil semelhante de carotenoides majoritários que o encontrado no presente estudo para polpa de cagaita, ou seja, β -caroteno e β -criptoxantina foram reportados por Silva e Mercadante (2002) para os lotes 3 e 5 de maracujá amarelo, que assim como a cagaita é uma fruta climatérica (amadurecimento após sua colheita).

A acerola apresenta uma composição próxima em termos dos três carotenoides principais, sendo a luteína o majoritário, seguido do β -caroteno e da β -criptoxantina, embora os teores sejam bem superiores (ROSSO e MERCADANTE, 2005) aos encontrados na polpa de cagaita analisada no presente estudo.

A redução dos teores de luteína e zeaxantina observados na amostra saponificada em relação à amostra não saponificada se explica pelo tempo de exposição ao álcali e reflete a degradação exercida pelo mesmo nesses carotenoides, apresentando impacto sobre o teor de carotenoides totais como relatado anteriormente.

Zanatta (2004) reportou perdas desses e de outros carotenoides após a etapa de saponificação em polpa de camu-camu. Outros autores também reportaram perdas de luteína e zeaxantina após a saponificação de diferentes matrizes vegetais, como Riso e Porrini (1997) e Kimura, Rodriguez-Amaya e Godoy (1990).

A composição dos carotenoides, bem como os seus teores encontrados no presente estudo, diferem dos achados descritos por Cardoso e col. (2011) em polpa de cagaita com casca fresca, produzida momentos antes das análises, obtida na cidade de Felixlândia (MG). Os carotenoides identificados pelos autores foram o α -caroteno (3,1 $\mu\text{g/g}$), β -caroteno (3,9 $\mu\text{g/g}$) e licopeno (0,6 $\mu\text{g/g}$). No presente estudo, foram encontrados a β -criptoxantina, a

luteína e a zeaxantina, além dos isômeros *cis* do β -caroteno, carotenoides não identificados na polpa de MG. Em contrapartida, Cardoso e col. (2011) observaram licopeno na polpa de cagaita de MG, carotenoide este não encontrado na polpa analisada no presente estudo. O carotenoide minoritário no presente estudo foi o α -caroteno, diferindo do estudo conduzido pelos autores citados acima que descreveram o licopeno como minoritário. As semelhanças entre o presente estudo e o estudo conduzido por Cardoso e col. (2011) foram em relação ao β -caroteno ser o carotenoide majoritário e a identificação do α -caroteno nos dois trabalhos.

Agostini-Costa, Abreu e Rossetti (2003) observando a estabilidade de carotenoides na polpa de acerola congelada durante onze meses, encontrando reduções significativas ($P \leq 0,05$) de β -caroteno e de β -criptoxantina no primeiro mês, sendo elas de 26% e 37% respectivamente. Quanto ao teor de β -criptoxantina, a redução foi de 61% no décimo mês de estocagem, enquanto que o β -caroteno se manteve estável após a perda inicial.

A polpa analisada no presente estudo foi submetida a congelamento lento e resultados similares foram reportados por Cavalcante (1991) durante a estocagem por 90 dias de polpa de pitanga submetida ao congelamento lento, sendo constatadas maiores perdas para β -caroteno (63%) e β -criptoxantina (38%) ao final do primeiro mês e nenhuma diferença ($P < 0,05$) para o α -caroteno durante a estocagem, demonstrando que o tipo de congelamento influencia também no percentual de perda.

Como observado nas Figuras 19 e 20, os métodos de extração, saponificação e de análise cromatográfica utilizados no presente estudo foram eficientes na separação para a identificação dos carotenoides e isômeros *cis*- β -caroteno na polpa de cagaita. Utilizando sete padrões, foi possível identificar por comparação de seus respectivos tempos de retenção, ordem de eluição e espectros de absorção apenas cinco carotenoides.

Contudo, Zanatta (2004) identificou e confirmou a identidade de 46 carotenoides em camu-camu após a saponificação por CLAE associada à EM, que diferiu do método utilizado no presente estudo em relação à fase móvel (água/metanol/éter metil *terc*-butílico) e a eluição da fase móvel (em gradiente), a ordem de eluição e ao tempo de retenção. Porém, a principal diferença, foi em relação ao número de padrões utilizados, que permitiram identificar um maior número de carotenoides na polpa analisada. Entretanto, como vantagem, o método utilizado no presente estudo é mais rápido considerando-se que o tempo total de análise foi de 28 minutos em comparação ao tempo de 60 minutos de análise do método utilizado por Zanatta (2004) e de 45 minutos do método preconizado por Rodriguez-Amaya e Kimura

(2004). A metodologia utilizada no presente estudo pode e deve ser otimizada com relação ao número de padrões utilizados para a construção da curva de calibração.

Considerando-se as perdas, principalmente de luteína e zeaxantina seria recomendável utilizar concentrações menores do álcali na saponificação a fim de minimizar as perdas desses carotenoides, assim como Zanatta (2004) otimizou.

Para garantir a confirmação da identidade dos carotenoides identificados por CLAE, serão realizados futuramente cromatografia em coluna aberta ou análise por espectrometria de massas, conforme recomendado por Rodriguez-Amaya e Kimura (2004).

5.5.3. Retenção de carotenoides na polpa de cagaita concentrada

Na Tabela 7, podem ser observados os teores de carotenoides encontrados nas polpas de cagaita integral, concentrada e clarificada e, na Figura 23, encontra-se o cromatograma dos carotenoides da polpa concentrada de cagaita saponificada. Todos os carotenoides presentes na polpa de cagaita integral, bem como os isômeros 9 e 13-*cis* do β -caroteno permaneceram na polpa concentrada após a sua clarificação, de modo que foram observados aumentos de 26% no teor de carotenoides totais e de 4%, 10%, 45% e 50% nos teores de β -caroteno, β -criptoxantina, luteína e zeaxantina, respectivamente, o que era esperado. Apenas os teores de α -caroteno encontraram-se diminuídos (38%) na polpa concentrada. Não foram identificados carotenoides na polpa clarificada.

Tabela 7. Teores de carotenoides e isômeros ($\mu\text{g/g}$) das polpas de cagaita integral e concentrada e do suco clarificado.

Carotenoides	Polpa integral	Polpa integral saponificada	Polpa concentrada Saponificada	Polpa clarificada
Totais	8,22 \pm 0,06	5,83 \pm 0,52	7,33 \pm 0,10	-
β-caroteno	0,97 \pm 0,08	1,70 \pm 0,18	1,77 \pm 0,14	-
9-cis-β-caroteno	Nd	0,20 \pm 0,01	0,22 \pm 0,01	-
13-cis-β-caroteno	Nd	0,09 \pm 0,01	0,09 \pm 0,01	-
β-criptoxantina	0,35 \pm 0,01	1,49 \pm 0,11	1,64 \pm 0,09	-
α-caroteno	Nd	0,18 \pm 0,16	0,07 \pm 0,03	-
Luteína	1,81 \pm 0,12	0,85 \pm 0,01	1,24 \pm 0,09	-
Zeaxantina	1,99 \pm 0,05	0,79 \pm 0,02	1,19 \pm 0,06	-

Resultados expressos em média e DP.

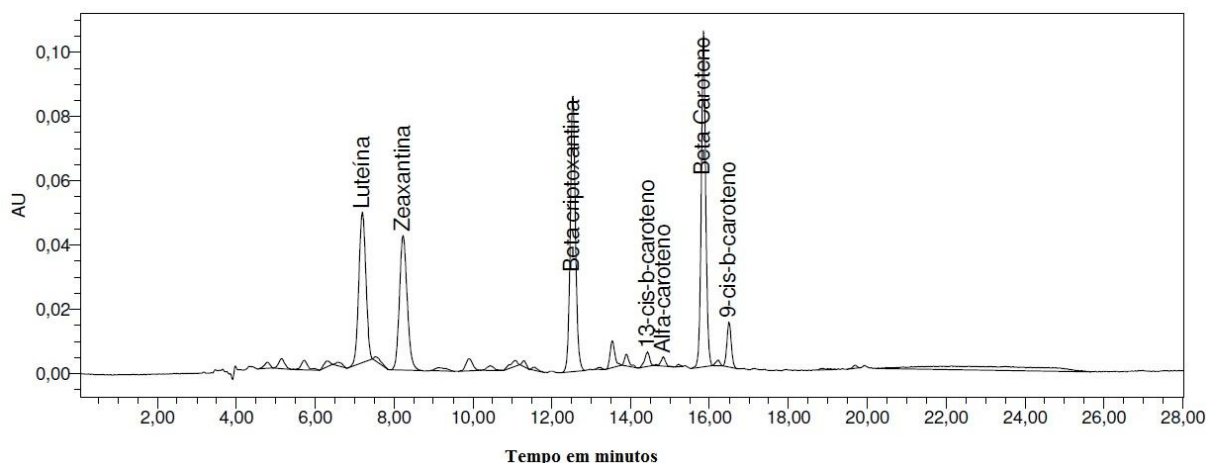


Figura 23. Cromatograma contendo os carotenoides encontrados no retentado remanescente do processo de MF da polpa integral de cagaita.

As condições envolvidas no processo de microfiltração, como a exposição à luz, ao oxigênio e à pressão não provocaram grandes alterações na molécula do β -caroteno, como pode ser confirmado pelo teor inalterado do isômero 9-*cis*- β -caroteno. A modificação que poderia ser atribuída ao mesmo foi o aumento em 10% na retenção de 13-*cis*- β -caroteno.

Os teores de carotenoides totais da polpa de cagaita concentrada (retentado) apresentaram o mesmo comportamento da polpa integral em relação à etapa de saponificação, ou seja, perda de 32%. Assim, foi então considerada a concentração de 10,76 $\mu\text{g/g}$, referente à extração sem a etapa de saponificação, como o teor real de carotenoides totais da fração retentada da polpa.

Pallet e col. (2005) processaram suco de laranja submetido a tratamento enzimático prévio por MF em membranas orgânica e de cerâmica, ambas tubulares com diâmetro de poro de 0,3 μm e área de 0,05 m^2 , obtendo fluxos de permeado acima de 60 L/h.m^2 , não encontrando carotenoides no suco permeado, o que corrobora os resultados obtidos no presente estudo. Reportaram ainda, baixos teores de carotenoides totais (4% do suco original) após a hidrólise enzimática. Estes autores ainda relataram a retenção de licopeno em sucos de goiaba e melancia na polpa concentrada quando foram utilizadas membranas de 0,2 μm .

Semelhantemente, foi observada por Silva e col. (2005) a ausência total de carotenoides no suco de maracujá orgânico, previamente hidrolisado e clarificado por MF com membrana de PES 0,3 μm e área de 0,05 m^2 , bem como fluxos semelhantes aos encontrados no presente estudo (25 L/h.m^2), contudo, a pressão utilizada no processo não foi

mencionada no estudo. No entanto, esses autores observaram aumento no teor de carotenoides totais (de 1,88 mg/100 g para 2,39 mg/100 g) após a hidrólise enzimática.

Ongaratto e Viotto (2009) processaram suco de pitanga, com e sem tratamento enzimático prévio, por MF utilizando membranas de PES com tamanho de poro de 150 kDa e de PVDF com tamanho de poro de 200 kDa e, ainda, por UF com membrana de celulose com *cut off* de 30 kDa, encontrando também 100% de retenção de carotenoides no suco concentrado remanescente do processo de clarificação. O mesmo foi reportado por Vaillant e col. (2005) na clarificação de suco de melão hidrolisado previamente por MF com membrana de cerâmica de 0,2 μm de tamanho de poro e 0,24 m^2 de área.

As retenções de carotenoides em processos com membranas não se devem à massa molecular desses compostos em função do diâmetro de poro, mas sim às afinidades químicas dos mesmos com outros compostos e com o material da membrana, especialmente as de maior tamanho de poro e orgânicas (TRACY e DAVIS, 1994; HO e ZYDNEY, 2000; PALLET *et al.*, 2005; ANDO *et al.*, 2011).

Essa ideia é reforçada ao considerarmos que os carotenoides encontram-se normalmente ligados a proteínas na matriz das frutas, enquanto que as xantofilas esterificadas, preferencialmente a ácidos graxos (RODRIGUEZ-AMAYA, KIMURA e AMAYA-FARFAN, 2008).

Como as proteínas também são encontradas em conteúdo menor nos sucos clarificados após processos com membranas, é presumível que os carotenoides também o sejam, indicando que podem estar ligados a proteínas de maior peso molecular. No caso das xantofilas, interações entre os lipídios e o material da membrana podem ser responsáveis pela retenção desses compostos no suco concentrado (ONGARATTO e VIOTTO, 2009).

Os teores reduzidos de α -caroteno na polpa de cagaita concentrada fornecem indícios de que este micronutriente possa ter atravessado a membrana, não tendo sido possível identificá-lo devido a teores remanescentes muito reduzidos, principalmente considerando que os teores de proteínas das polpas integral, concentrada e clarificada não apresentaram diferença significativa ($P < 0,05$). Adicionalmente, pode ter sido adsorvido na membrana se considerarmos que este micronutriente só pode ser identificado após a saponificação, indicando que o mesmo poderia se encontrar esterificado a algum ácido graxo.

Assim, antes de concluir que os carotenoides não permeiam as membranas, técnicas para diminuir a adsorção e a polarização podem e devem ser otimizadas nos processos com membranas, entre elas, a otimização da pressão utilizada, o tipo e material da membrana, o

aumento da pressão e da velocidade do fluxo para produzir turbulência que reduziria a camada de concentração e a inversão de fluxo por curto período de tempo (TRACY e DAVIS, 1994; HO e ZYDNEY, 2000; ANDO *et al.*, 2011).

O processamento da polpa de cagaita por MF, nas condições realizadas neste estudo, permitiu a obtenção de clarificado com características próximas às do suco original e o retentado remanescente do processo apresenta ainda um valor agregado em relação à concentração dos carotenoides presentes na polpa da fruta.

5. Conclusões

- ✓ O teor de carotenoides totais encontrados na polpa de cagaita foi de 8,22 µg/g e os carotenoides identificados foram a luteína, a zeaxantina, a β-criptoxantina, o α-caroteno e o β-caroteno, além dos isômeros 9 e 13-*cis*-β-caroteno sendo o β-caroteno o carotenoide mais abundante seguido da β-criptoxantina e o α-caroteno o minoritário;
- ✓ Os aumentos dos percentuais de retenção na polpa concentrada de cagaita quanto ao β-caroteno, β-criptoxantina, luteína e zeaxantina foram de 4%, 10%, 45% e 50% respectivamente, além do aumento de 10% do isômero 13-*cis*-β-caroteno e sendo o α-caroteno o único carotenoide reduzido na polpa concentrada, fornecendo indícios de que pode ter atravessado a membrana;
- ✓ A polpa de cagaita clarificada não apresentou carotenoides, os quais foram completamente retidos na polpa concentrada remanescente do processo de clarificação;
- ✓ A saponificação prévia à extração dos carotenoides promoveu a redução de luteína e de zeaxantina, porém foi essencial para identificar o α-caroteno e permitir a quantificação adequada dos teores de β-caroteno e β-criptoxantina;
- ✓ As polpas concentrada e clarificada apresentaram composição compatível com os padrões estabelecidos pela legislação brasileira, bem como a polpa clarificada revelou-se comercialmente estéril, encontrando-se dentro dos padrões preconizados pela legislação brasileira;

- ✓ O maior tamanho de partículas da polpa de cagaita integral foi de 550 μm , e o menor de 25 μm . Nanopartículas foram encontradas, porém, em baixa frequência;
- ✓ O fluxo médio de 20,15 $\text{L}/\text{m}^2\cdot\text{h}$ na clarificação da polpa de cagaita por MF, não foi considerado elevado, porém pode ser otimizado para utilização em escala industrial;
- ✓ A retenção dos carotenoides na polpa de cagaita concentrada pode agregar valor ao subproduto do processo, viabilizando a microfiltração para a clarificação de polpa de cagaita para retenção destes compostos.

5. Perspectivas futuras

- Determinar os carotenoides dos frutos da cagaita frescos provenientes da cidade de Damianópolis (GO) para melhor compreensão das perdas ocorridas no processamento da polpa comercial a fim de indicar o melhor método para a manutenção desses compostos ao longo do período de armazenamento;
- Otimizar a etapa de saponificação, testando menores concentrações da solução de hidróxido de sódio até encontrar a melhor relação entre a eliminação dos interferentes e menores perdas de luteína e zeaxantina;
- Repetir a identificação de carotenoides por CLAE com maior número de padrões analíticos referentes a carotenoides para aumentar as chances de separação dos componentes desta e de outras matrizes alimentares;
- Confirmar a identidade dos carotenoides encontrados na polpa de cagaita por CCA ou MS;
- Otimizar o processo de clarificação de polpa de cagaita por MF com membrana de PES em relação ao fluxo, testando diferentes pressões e avaliando a possibilidade de hidrólise enzimática prévia ou não;
- Realizar análises de turbidez, viscosidade e luminosidade das polpas clarificadas de maneira a compreender melhor o comportamento da matriz frente ao processo;
- Realizar estudo da vida de prateleira para verificar a eficiência do processo em longo prazo em relação à qualidade nutricional e microbiológica dos sucos clarificados.

6. Referências

AGOSTINI-COSTA, T. S.; ABREU, L. N.; ROSSETTI, A. G. Efeito do congelamento e do tempo de estocagem da polpa de acerola sobre o teor de carotenoides. **Revista Brasileira de Fruticultura**. 25(1): 56-58, 2003

ALMEIDA-MURADIAN, L. B.; POPP, V.; FARIAS, M. P. Provitamin A activity of Brazilian carrots: leaves and roots, raw and cooked and their chemical composition. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 17: 120-124, 1997.

ALVES, G.L.; FRANCO, M.R.B. Headspace gas chromatography-mass spectrometry of volatile compounds in murici (*Byrsonima crassifolia* L. Rich); **Journal of Chromatography A**, 985: 297-301, 2003.

ANDO, T.; AKAMATSU, K.; FUJITA, M.; NAKAO, S. Direct simulation model of concentrated particulate flow in pressure-driven dead-end microfiltration. **Journal Chemical Engineering of Japan**. 43: 815-828, 2010.

ANDO, T.; AKAMATSU, K.; NAKAO, S.; FUJITA, M. Simulation of fouling and backwash dynamics in dead-end microfiltration: Effect of pore size. **Journal of Membrane Science**. 392-393 (1): 48-57, 2011.

AMBRÓSIO, C.L.B.; CAMPOS, F.A.C.S.; FARO, Z.P. Carotenoides como alternativa contra a hipovitaminose A. **Revista de Nutrição**, 19(2): 233-243, mar./abr., 2006. Campinas.

AOAC, Association of Official Analytical Chemists: *Official Methods of Analysis*. Washington (USA), 1998.

ASSUMÇÃO, R. B.; MERCADANTE, A. Z., Carotenoids and ascorbic acid from cashew apple (*Anacardium occidentale* L.): variety and geographic effects. **Food Chemistry**. (81): 495-502, 2003a.

ASSUMÇÃO, R. B.; MERCADANTE, A. Z., Carotenoids and ascorbic acid composition from commercial product cashew apple (*Anacardium occidentale* L.). **Journal of Food Composition Analysis**. (16): 647-657, 2003b.

BARROS, S.T., ANDRADE, C.M.G., MENDES, E.S., PERES, L. Study of fouling mechanism in pineapple juice clarification by ultrafiltration. **Journal of Membrane Science**. 215: 213-224, 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos (aprovado pelo decreto 3029, de 16 de abril de 1999, em reunião realizada em 20 de dezembro de 2000). Resolução RDC nº 12, de 2 de Janeiro de 2001. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_01rdc.htm. Acesso em 16/11/2009.

BUENO, S. M.; GRACIANO, R. A. S.; FERNANDES, E. C. B.; GARCIA-CRUZ, C. H. Avaliação da qualidade de polpas de frutas congeladas. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, 62(2): 121-126, 2002.

BUSCHBACHER, R. **Expansão agrícola e perda da biodiversidade no cerrado**: origens históricas e o papel do comércio internacional. Brasília, DF: WWF Brasil, 2000. 104 p. (Série técnica, 7).

CARDOSO, S. L. Fotofísica de carotenoides e o papel antioxidante de β -caroteno. *Química Nova*, 20(5): 535-540, 1997.

CARDOSO, F. S. N.; CARVALHO, L. M. J.; TEBALDI, N.; GOMES, P. B.; FIGUEIREDO, R. E. P. Clarity of pulp cagaita enzyme treatment after a different conditions for clarification by microfiltration: preliminary study. **In: 16th World Congress of Food Science and Technology**. Foz do Iguaçu, Paraná, Brazil. IUFOST, 5-9 de agosto, 2012.

CARDOSO, L. M.; MARTINO, H. S. D.; MOREIRA, A. V. B.; RIBEIRO, S. M. R.; PINHEIRO-SANT'ANA, H. M. Cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) of the Cerrado of Minas Gerais, Brazil: Physical and chemical characterization, carotenoids and vitamins. *Food Research International*, 44 (7): 2151-2154, 2011.

CARNEIRO, L.; SA, I.S.; GOMES, F.S.; MATTA, V.M.; CABRAL, L.M.C. Cold sterilization and clarification of pineapple juice by tangential microfiltration. **Desalination**. 148: 93-98, 2002.

CARVALHO, J. M. Recuperação de ácido láctico por filtração tangencial. Tese submetida ao Instituto Superior Técnico para obtenção do grau de Mestre em Engenharia Química da Universidade Técnica de Lisboa. Lisboa, 2008.

CARVALHO, L. M. J.; BORCHETTA, R.; SILVA, E. M. M.; CARVALHO, C. W. P.; MIRANDA, R. M.; SILVA, C. A. B. Effect of enzymatic hydrolysis on particle size reduction in lemon juice (*Citrus limon*, L.), cv. Tahiti. **Brazilian Journal of Food Technology**. 9 (4): 227-282, 2006.

CARVALHO, L. M. J. Abacaxi (*Ananas comosus* L. Merrill) cv. Pérola: obtenção e avaliação de suco clarificado por membranas. Tese submetida ao Curso de Pós-Graduação em Agronomia, área de Concentração em Fitotecnia, como requisito parcial para obtenção do grau de Philosophiae Doctor, em Fitotecnia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Seropédica, 2004.

CARVALHO, L. M. J.; CASTRO, I. M.; SILVA, C. A. B. A study of retention of sugars in the processo f clarification of pineapple juice (*Ananas comosus*, L. Merrill) y micro and ultrafiltration. **Journal of Food Engineering**. 87: 447-454, 2008.

CARVALHO, L.M.J. GAVA, J.R. e ABADIO, F.D.B. Commercial sterilization of fruit juices by ultrafiltration/microfiltration membranes. **Alimentaria**, 333: 123-129, 2002.

CARVALHO, L. M. J.; RIBEIRO, E.M.G.; VIANA, D.S. e MOURA, M. R. L. Total Carotenoids in Cagaita (*Eugenia dysenterica* DC). In: **XV Congresso Latinoamericano de nutrición: “Nutrición, alimentos y desarrollo em america latina”**. Santiago do Chile, Chile. SLAN, 2009.

CARVALHO, L.M.J.; SILVA, C.A.B. e PIERRUCI, A.P.T.R. Clarification of pineapple Juice (*Ananas comosus*, L. Merrill) by ultrafiltration and microfiltration: Physicochemical evaluation of clarified juices, soft drink formulation, and sensorial evaluation. **Journal of the Agriculture and Food Chemistry.**, 46(6): 2185-2189, 1998.

CAVALCANTE, M. L. Composição de carotenoides e valor de vitamina A em pitanga (*Eugenia uniflora*) e acerola (*Malpighia glabra* L.). Dissertação apresentada a Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas para obtenção do título de Mestre em Ciência de Alimentos, Campinas, 1991.

CAVALCANTE, M. L.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Carotenoid composition of the tropical fruits *Eugenia uniflora* and *Malpighia glabra*. In: CHARALAMBOUS G. (Ed.). **Food Science and Human Nutrition**. Amsterdam: Elsevier Science Publishers: 643-650, 1992.

CASTRO, T. R.; ABREU, F. A. P.; CARIOCA, J. O. B. Obtenção de suco clarificado de caju (*Anacardium occidentale*, L) utilizando processos de separação por membranas. **Revista Ciência Agrônômica**. 38 (2): 164-168, 2007.

CHAVES, L. J. e TELLES, M. P. C. Capítulo 7: Cagaita in Frutas Nativas da Região Centro-Oeste. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2006. 320 p.

CHERYAN, M. (Ed) Ultrafiltration and Microfiltration Handbook. Lancaster: Technomic Publ., 526, 1998

CIANCI, F.C.; SILVA, L.F.M.; CABRAL, L.M.C. e MATTA, V.M. Clarificação e concentração de suco de caju por processos com membranas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 25(3): 579-583, jul.-set. 2005.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. **Introdução a métodos cromatográficos**. Campinas, São Paulo: Editora da UNICAMP, 1997.

CORREIA, L.F.M.; FARAONI, A.S. e PINHEIRO-SANT'ANA, H.M. Efeitos do processamento industrial de alimentos sobre a estabilidade de vitaminas. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, 19 (1): 83-95, jan./mar. 2008.

COSTA, M. A. L.; ORTEGA-FLORES, C. I.; PENTEADO, M. V. C. Alterações estruturais *in vivo* dos isômeros 9 *cis* e 13 *cis* do β -caroteno. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. 22 (3): 224-228, set.-dez., 2002.

DAVIES, N. P.; MORELAND, A. B. Macular pigments: their characteristics and putative role. **Progress in Retinal and Eye Research**, 23: 533-559, 2004.

DE PAULA, M. J.; LISSI, C. V.; MONTEIRO, B. F.; VENILDES, H. R. Melhoria na eficiência da clarificação de suco de maracujá pela combinação dos processos de microfiltração e enzimático. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. 22 (2): 311-324, 2004.

DHUIQUE-MAYER, C.; FANCIULLINO, A. L.; DUBOIS, C.; OLLITRAULT, P. Effect of genotype and environment on citrus juice carotenoid content. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. (57): 9160-9168, 2009.

FAILLA, M. L.; CHITCHUMROONCHOKCHAI, C.; ISHIDA, B. K. In vitro micellarization and intestinal cell uptake of cis isomers of lycopene exceed those of all-trans lycopene. **The Journal of Nutrition**, 138: 482-486, 2008.

FERNANDES, A.G; MAIA, G.A.; SOUSA, P.H.M.; COSTA, J.M.C.; FIGUEIREDO, R.W. e PRADO, G.M. Comparação dos teores em vitamina c, carotenóides totais, antocianinas totais e fenólicos totais do suco tropical de goiaba nas diferentes etapas de produção e influência da armazenagem. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, 18 (4): 431-438, out./dez. 2007.

FRANCO, G. Tabela de composição química dos alimentos. 9 ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2003.

FRANCO, B. D. G.; LANDGRAF, M. Microbiologia de alimentos. 2 ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2003. p.126-133.

FRANK, H. A.; YOUNG, A. J.; BRITTON, G.; COGDELL, R. J. **The Photochemistry of Carotenoids**. New York, Boston, Dordrecht, London, Moscow: Kluwer Academic Publishers, 2004. 399 p.

FREIRE, M. T. A.; PETRUS, R. R.; FREIRE, C. M. A.; OLIVEIRA, C. A. F.; FELIPE, A. M. P. F.; GATTI, J. B. Caracterização físico-química, microbiológica e sensorial de polpa de cupuaçu congelada (*Theobroma grandiflorarum schum*). **Brazilian Journal of Food Technology**. 12(1): 09-16, 2009.

GAO, L.; BEVERIDGE, T.; REID, C.A. Lebensmittel Wissenschaft und Technologie. 30 (1): 23-29, 1997.

FUJITA, M.; YAMAGUCHI, Y. Multiscale simulation method for self-organization of nanoparticles in dense suspension. **Journal of Computational Physics**. 223: 108-120, 2007.

FUJITA, M.; YAMAGUCHI, Y. Simulation model of concentrated colloidal nanoparticulate flows. **Physical Review** 77: 026706, 2008.

FUKUMOTO, L. R.; DELAQUIS, P.; GIRARDI, B. Microfiltration and ultrafiltration ceramic membranes for Apple juice clarification. **Journal of Food Science**. 63: 845-850, 1998.

HABERT, A. C.; BORGES, C. P; NOBREGA, R. Aspectos gerais dos processos com membranas. In HABERT, A. C.; BORGES, C. P.; NOBREGA, R. **Processo de separação com membranas**. Rio de Janeiro: Editora da Universidade Federal do Rio de Janeiro, 1997. Cap 1

HAMANO, P. S.; MERCADANTE, A. Z. Composition of carotenoids from commercial product of cajá (*Spondias lutea*). **Journal of Food Composition Analysis**. (14):335-343, 2001.

HESS, S. Y.; THURNHAM, D. I.; HURRELL, R. F. Influence on provitamin A carotenoides on iron, zinc and vitamina A status. **Harvest Plus Technical Monograph 6**, 2005.

HO, C. C.; ZYDNEY, A. L. A combined pore blockage and cake filtration model for protein fouling during microfiltration. **Journal of Colloids Interface Science**. 232: 389–399, 2000.

IBGEa **Mapa de biomas**. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_visualiza.php?id_noticia=169. Acesso em 18 de Fevereiro de 2012.

IBGEb **Mapa de biomas e vegetação**. Disponível em: ftp://ftp.ibge.gov.br/Cartas_e_Mapas/Mapas_Murais/. Acesso em 18 de Fevereiro de 2012.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. 3 ed., São Paulo, IAL, 2005.

KIMURA, M.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. b.; GODOY, H. T. Assessment of the saponification step in the quantitative determination of carotenoids and provitamin A. **Food Chemistry**. 35: 187-195, 1990.

KIMURA, M.; KOBORI, C. N.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; NESTEL, P.. Screening and HPLC methods for carotenoids in sweetpotato, cassava and maize for plant breeding trials. **Food Chemistry**. 100, 1734-1746, 2007

KLINK, C. A. e MACHADO, R. B. A conservação do cerrado brasileiro. *Megadiversidade*. 1(1): 2005.

KOBLITZ, M. G. B. *Bioquímica de alimentos: teorias e aplicações práticas*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. 171-172p.

KOHMEIER, L.; KARK, J. D.; GOMEZ-GARCIA, E.; MARTIN, B. C.; STECK, S. E.; KARDINAAL, A. F. M.; RINGSTAD, J.; THAMM, M.; MASAEV, V.; RIEMERSMA, R.; MARTIN-MORENO, J. M.; HUTTUNEN, J. K.; KOK, F. J. Lycopene and myocardial infarction risk in the euramic study. **American Journal of Epidemiology**, 146: 618-626, 1997.

KOSEOGLU, S. S.; RHEE, K. C.; LUSAS, E. W. Membranratorise processing of crude vegetables oils: Laboratory scale membrane degumming, refining and bleaching. **Journal of American oil chemists Society**, Champaing. 27(6) 182-188. 2989.

KRINSKY, N. I.; JOHNSON, E. J. Carotenoid actions and their relation to health and disease. **Molecular Aspects of Medicine**, 26: 459-516, 2005.

LAORKO, A.; LI, Z.; TONGCHITPAKDEE, S.; CHANTACHUM, S.; YOURAVONG, W. Effect of membrane property and operating conditions on phytochemical properties and permeate flux during clarification of pineapple juice. **Journal of Food Engineering**. 100: 514-521, 2010.

LEITÃO, M. F. F. Microbiologia de sucos, polpas e produtos ácidos. In: SOLER, M. P. *et al.* **Industrialização de frutas**. Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimentos: 46-76, 1998.

LIMA, J. R.; MARTINS, S. C. S.; SILVA, J. L. A. Avaliação de polpas de frutas congeladas comercializadas no Estado do Ceará através de indicadores microbiológicos. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, 15(88): 62-66, 2001.

LIMA, V. L. A. G.; MÉLO, E. A. e LIMA, D. E. S. Fenólicos e carotenoides totais em pitanga. **Scientia Agricola**, v.59, n.3, p.447-450, jul./set. 2002.

LOPES, A. S.; MATTIETTO, R. A. e MENEZES, H. C. Estabilidade da polpa de pitanga sob congelamento. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 25(3): 553-559, jul.-set. 2005.

LORENZI, H. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil. v. 2, 2 ed., Nova Odessa, SP, Instituto Plantarum, 2002.

MANTHEY, J. A.; PERKINS-VEAZIE, P. Influences of Harvest Date and Location on the Levels of β -Carotene, Ascorbic Acid, Total Phenols, the in Vitro Antioxidant Capacity, and Phenolic Profiles of Five Commercial Varieties of Mango (*Mangifera indica* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. (57): 10825–10830, 2009.

MARTINOTTO, C.; PAIVA, R.; SOARES, F. P.; SANTOS, B. R. e NOGUEIRA, R. C. Cagaiteira (*Eugenia dysenterica* DC.). Lavras, MG: Universidade Federal de Lavras - **Boletim Técnico**, n. 78, p. 1-21, 2008.

MATTA, V.M.; CABRAL, L.M.C. e SILVA, L.F. Suco de acerola microfiltrado: avaliação da vida de prateleira. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 24 (2): 293 – 297, abril/junho, 2004.

MATTA, V. M.; CABRAL, L. M. C.; SILVA, F. C.; MORETTI, R. H. Microfiltration and reverse osmosis for clarification and concentration of acerola juice. **Journal of Food Engineering**, 61: 477-482, 2004

MAGALHÃES, M. P.; GOMES, F. S.; MODESTA, R. C. D.; MATTA, V.M.; CABRAL, L. M. C. Conservação de água de coco verde por microfiltração com membrana. **Ciência de Tecnologia de Alimentos**. 25(1): 72-77, jan-mar 2005.

MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, A. J.; BRITTON, G.; VICARIO, I. M.; HEREDIA, F. J. Relationship between the colour and the chemical structure of carotenoid pigments. **Food Chemistry**, v. 101, p. 1145-1150, 2007.

MERCADANTE, A. Z. Chromatographic separation of carotenoids. **Archive Latin American Nutrition**. 49: 52S-57S, 1999.

MERCADANTE, A. Z.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Effect of ripening, cultivar differences, and processing of the carotenoid composition of mango. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. (46): 128-130, 1998.

MERCADANTE, A. Z.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; BRITTON, G. HPLC and mass spectrometric analysis of carotenoids from mango. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 45. 120-123, 1997.

MERLO, C. A.; ROSE, W. W.; ERING, N. L. Membranes filtration handbook selection guide. Dublin: National Food Processors Association: 281, 1993.

MILNES, B. A.; BRESLAU, B. R.; REARDON, P. C. The application of ultrafiltration to apple juice. Pro-Biotech., august: vii, xii e xi, 1986.

MIRSAEEDGHAZI, H.; MOUSAVI, S. M.; DJOMEH, Z. E.; REZAEI, K.; AROUJALIAN, A.; NAVIDBAKHSH, M. Comparison between ultrafiltration and microfiltration in the clarification of pomegranate juice. **Journal of Food Engineering**. ISSN: 1745-4530, 2010.

MODLER, W. H. Milk Processing. In SHURYO, N.; MODLER, W. H. **Food protein processing application**. New York: Wiley, 1-88, 2000.

NAVES, R. V. Espécies frutíferas nativas dos cerrados de Goiás: caracterização e influências do clima e dos solos. 1999. 206 f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 1999.

NUNES, I. L.; MERCADANTE, A. Z. vantagens e desvantagens das colunas C18 e C30 para separação de carotenoides pó CLAE. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, 42(4): out/dez. 2006.

NUNES, S. P. Preparação de membranas. I Escola Latino-Americana de Processo com Membranas. Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química, Campinas, São Paulo, 186, 1994.

OLIVEIRA, A. R. G. Avaliação e estudo da retenção de carotenóides totais e β -caroteno em mandioca amarela mansa e brava. Tese apresentada ao Instituto de Tecnologia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro para obtenção do título de Mestre em Ciência. Seropédica, 2006.

OLIVEIRA, M. E. S.; PANTOJA, L.; DUARTE, W. F.; COLLELA, C. F.; VALARELLI, L. T.; SCHWAN, R. F. e DIAS, D. R. Fruit wine produced from cagaita (*Eugenia dysenterica* DC) by both free and immobilised yeast cell fermentation. **Food Research International**. 2011.

OLIVEIRA, J. C.; SETTI-PERDIGÃO, P.; SIQUEIRA, K. A. G.; SANTOS, A. C.; MIGUEL, M. A. L. Características microbiológicas do suco de laranja *in natura*. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. 26 (2): 241-245, 2006.

OLLE, D.; BAON, A.; LOZANO, Y.; SZNAPER, C.; BAUMES, R.; BAYONNE, C.; BRILLOUET, J. M. Microfiltration and reverse osmosis affect recovery of mango puree flavor compounds. **Journal of Food Science**. 62: 1116-1119, 1997.

ONGARATTO, R. S.; VIOTTO, L. A. Clarificação do suco de pitanga (*Eugenia uniflora* L.) e concentração de carotenoides por microfiltração e ultrafiltração. **Brazilian Journal of Food Technology**. VII BMCFB, junho, 2009.

OSGANIAN, S. K.; STAMPFER, M. J.; RIMM, E.; SPIEGLMAN, D.; MANSON, J. E.; WILLETT, W. C. Dietary carotenoids and risk of coronary artery disease in women. **The American Journal of Clinical Nutrition**, 77: 1390-1399, 2003.

OSTERGAARD, B. Applications of membrane processing in the dairy industry. In CONCENTRATION and drying of foods. Amsterdam: Elsevier, 133 – 145, 1989

PACHECO, S. Preparo de padrões analíticos, estudo de estabilidade e parâmetros de validação para ensaios de carotenoides por cromatografia líquida. Tese apresentada ao Instituto de Tecnologia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro para obtenção do título de Mestre em Ciência. Seropédica, 2006.

PACHECO, S. **Carotenoides: Estruturas Químicas**. Disponível em: <http://cromatografialiquida.com.br/caroteestrut.htm>. Acesso em: 18 de Fevereiro de 2012.

PALLET, D.; CABRAL, L.; MATTA, V.; GARCIA, N.H.P.; MENEZES, H.C.; ABREU, F.A.P.; DORNIER, M. e REYNES, M. Aplicação da tecnologia de membranas no processamento de sucos de frutas brasileiras. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, Brasília, 22 (2): p.427-437, maio/ago. 2005.

PARTELLI, F. L.; TAKEUCHI, K P.; NAVES, R, V.; CHAVES, L. J. Frutas do Cerrado: alternativa sustentável. **A Lavoura**, fev., 2010.

PAULSON, D. J. WILSON, R. L.; SPATZ, D. D. Crossflow membrane technology and its application. **Food Technology**, Chicago, 12: 77-87, 1984.

PENTEADO, M.V.C. Vitaminas: aspectos nutricionais, bioquímicos, clínicos e analíticos. Barueri, São Paulo: Manole, 2003.

PORCU, O.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Variation of the carotenoid composition of lycopene-rich pitanga (*Eugenia uniflora* L.). **Plant Food of Human Nutrition**. (63):195-199, 2008.

PORCU, O.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Variation in the carotenoid composition of acerola and its processed products. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. (86):1916-1920, 2006.

RAI, P.; MAJUNDAR, G. C.; GUPTA, S. D. S. Effect of various pretreatment methods on permeate flux and quality during ultrafiltration of mosambi juice. **Journal of Food Engineering**. 63: 631-638, 2005.

RIEDL, K.; GIRARD, P.; LENCKI, R. W. Influence of membrane structure on fouling layer morphology during apple juice clarification. **Journal of Membrane Science**. 139 (2), 1996.

RHCASTILHOS. **Fisheiro: Schematic diagram of the human eye pt. svg**. Disponível em: [http://pt.wikipedia.org/wiki/Fisheiro:Schematic diagram of the human eye pt.svg](http://pt.wikipedia.org/wiki/Fisheiro:Schematic_diagram_of_the_human_eye_pt.svg). Acesso em: 18 de Fevereiro de 2012.

RIBEIRO, E. M. G. Atividade antioxidante e polifenóis no fruto de cagaita (*Eugenia dysenterica* D C) com e sem casca. Dissertação apresentada a Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio de Janeiro para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas, Rio de Janeiro, 2011.

RIBEIRO, E. M. G.; CARVALHO, L. M. J.; VIANA, D. S.; GOMES, P. B.; MOURA, M. R. L. Caracterização Física e Química do Fruto da Cagaiteira (*Eugenia dysenterica* DC). In: **XXII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos: “Ciência e Tecnologia de Alimentos: potencialidades, desafios e inovações.”** Salvador, Bahia. CBCTA, 2010.

RISO, P.; PORRINI, M. Determination of carotenoids in vegetable foods and plasma. **International Journal for Vitamin and Nutrition Research**. 67: 47-54, 1997.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **A Guide to Carotenoid Analysis in Foods**, 2001. 64p.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Effects of processing and storage on food carotenoides. **Sight and Life Newsletter**. 3 (Special Issue): 25-35, 2002.

RODRIGUES, S. L. C.; MOREIRA, R. L. S.; CARDOSO, M. H.; MERÇON, F. Avaliação dos parâmetros de ultrafiltração de suco de banana. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 23 (supl): 98-101, dez, 2003.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. e KIMURA, M. HarvestPlus Handbook for Carotenoid Analysis. Washington, DC and Cali: IFPRI and CIAT, 58p. **HarvestPlus Technical Monograph**, 2004.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. e KIMURA, M.; AMAYA-FARFAN, J. **Fontes brasileiras de carotene: tabela brasileira de composição de carotenoides em alimentos**. Ministério do Meio Ambiente. Brasília, 2008. 100.

RODRÍGUEZ-BERNALDO, A. Q.; COSTA, H. S. Analysis of carotenoids in vegetable and plasma samples: **Journal of Food Composition and Analysis**, 19, 97-111, 2006.

ROESLER, R., MALTA, L.G., CARRASCO, L.C., HOLANDA, R.B., SOUSA, C.A.S., PASTORE, G.M. Atividade antioxidante de frutas do cerrado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 27(1): 53-60, jan - mar, 2007.

ROSSO, V. V.; MERCADANTE, A. Z. Carotenoid composition of two Brazilian genotypes of acerola (*Malpighia puniceifolia* L.) from two harvests. **Food Research International**. 38: 1073-1077, 2005.

SÁ, M. C.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Carotenoid composition of cooked green vegetables from restaurants. **Food Chemistry**. 83, 595-600, 2003.

SÁ, M. C.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. optimization of HPLC quantification of carotenoides in cooked green vegetables – Comparison of analytical and calculated data. **Journal of Food Composition and Analysis**. 17: 37-51, 2004.

SANDER, L. C.; SHARPLESS, K. E.; PURSCH, M. C30 stationary phases for the analysis of food by liquid chromatography. **Journal of Chromatography**, 880, 189-202, 2000.

SANTOS, F. A.; SALLES, J. R. J.; CHAGAS FILHO, E.; RABELO, R. N. Análise qualitativa das polpas congeladas de frutas produzidas pela Sufruits. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, 18(119): 14-22, 2004.

SESSO, H. D.; LIU, S.; GAZIANO, J. M; BURIG, J. E. Dietary lycopene, tomato-based food products and cardiovascular disease in women. **The Journal of Nutrition**, 133: 2336-2341, 2003.

SIEGRIST, H.; JOSS, A. mikro und ultrafiltration. In: verfahrenstechnik der abwasserreinigung- Physikalische und chemische VERFAHREM, 2004, P. 1-42.

SILVA, J. A.; SILVA, D. B.; JUNQUEIRA, N. T. V.; ANDRADE, L. R. M. **Frutas nativas do cerrado**. Embrapa, Brasília, 1994. 166p.

SILVA, M. R.; JÚNIOR, R. T. O. S.; FERREIRA, C. C. C. Estabilidade da vitamina C em cagaita *in natura* e durante a estocagem da polpa e refresco. **Pesquisa Agropecuária Tropical**. 38 (1): 53-58, mar., 2008.

SILVA, M. R.; LACERDA, B. C. L.; SANTOS, G. G. e MARTINS, D.M. O. Caracterização química de frutos nativos do cerrado. **Ciência Rural**, Santa Maria, 38 (6): 1790-1793, set, 2008.

SILVA, R. S. M.; CHAVES, L. J. e NAVES, R. V. Caracterização de frutos e árvores de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) no sudeste do estado de Goiás, Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 23(2): 330-334, 2001.

SILVA, S. R. e MERCADANTE, A. Z. Composição de carotenóides de maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* flavicarpa) *in natura*. **Ciência e Tecnologia de Alimentos** 22(3): 254 – 258, set.–dez, 2002.

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(4) 419-422, 2005

SIQUEIRA, R. S.; BORGES, M. F. Microbiologia de frutas e produtos derivados. In: TORREZAN, R. (Coord.). Curso de processamento de frutas. Rio de Janeiro: EMBRAPA/CTAA, 1997. p. 2-13.

SOUZA, W. A.; BOAS, O. M. G. C. V. a. deficiência de vitamina a no Brasil: Um anorama. *Revista panamericana salud publica/ Pan Americana public Health* 12 (3), 2002.

SOUZA, E.R.B.; NAVES, R.V. e CARNEIRO, I.F. Crescimento e sobrevivência de mudas de cagaiteira (*Eugenia dysenterica* DC) nas condições do cerrado. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 24(2): 491-495, 2002.

SPECK, M. L. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. Washington : APHA, 2 ed., p. 914, 1984.

SREENATH, H. K.; SUDARSHANAKRISHNA, K. R.; SANTHANAM, K. Improvement of juice recovery from pineapple pulp/residue using cellulose and pectinases. **Journal Fermentation and Bioengineering**. 78 (6): 486-488, 1994.

STRATHMANN, H. Synthetic membranes and their preparation. In: PORTER M. C. (Ed). **Handbook of industrial membranes technology**. New Jersey:Noyes Publication, 1990.

STREIT, N. M.; CANTERLE, L. P.; CANTO, M. W.; HECKTHEUER, L. H. H. As Clorofilas. **Ciência Rural**. 35(3) 748-755, 2005.

STOLFI, J. **File: Cagaita/4. png.** Disponível em: <http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Cagaita-4.png?uselang=pt-br>. Acesso em 18 de Fevereiro de 2012.

SUTHERLAND, J.; FREE, M. J. A method for monitoring leakage through membranes during ultrafiltration of milk. **Journal Dairy Technology**, Austr, 46(1): 40-42, 1991.

TATAGIBA, F. **Plantas do cerrado.** Disponível em: <http://www.biologo.com.br/plantas/cerrado/cagaita.html>. Acesso em 18 de Fevereiro de 2012.

THURNHAM, I. D. Bioequivalence of β -carotene and retinol. **Food of the Science of Food and Agriculture**, 87: 13-39, 2007.

TRACY, E. M.; DAVIS, R. H. Protein fouling of track-etched polycarbonate microfiltration membranes. **Journal Colloids Interface Science**. 167: 104-116, 1994.

UENOJO, M.; JUNIOR, M. R. M.; PASTORE, G. M. Carotenoides: propriedades, aplicações e biotransformações para formação de compostos de aroma. **Química Nova**. 30 (3): 616-622, 2007.

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

VAILLANT, F.; MILLAN, A.; DORNIER, M.; DECLoux, M.; REYNES, M. Strategy for economical optimization of the clarification of pulpy fruit juice using crowflow microfiltration. **Journal of Food Engineering**. 48: 83-90, 2001.

VAILLANT, F.; MILLAN, P.; O'BRIEN, G. M.; DORNIER, M.; DECLoux, M.; REYNES, M. 1999. Crossflow microfiltration of passion fruit juice. After partial enzymatic liquefaction. **Journal of Food Engineering**, 42: 215-224, 2001.

VALDUGA, E.; TATSCH, P.O.; TIGGEMANN, L.; TREICHEL, H.; TONIAZZO, G.; ZENI, J.; DI LUCCIO, M. D. Produção de carotenoides: microrganismos como fonte de pigmentos naturais. **Química Nova**. 32(9): 2429-2436, 2009.

VENTURINI FILHO, W. G.; DORNIER, M.; BELLEVILLE, M. Tangential microfiltration of orange juice in bench pilot. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. 23 (3): 330-336, 2003.

VIANA, 2010. Lima ácida (*Citrus latifolia*, Tanaka), cv *Tahiti*, de cultivos convencional e orgânico biodinâmico: avaliação da capacidade antioxidante dos sucos *in natura* e clarificados por membranas de microfiltração. Dissertação apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio de Janeiro para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas, Rio de Janeiro, 2010.

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. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**. (38): 683–689, 2005.

WHO, WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Indicators for assessing vitamin A deficiency and their application in monitoring and evaluating interventions programs**. Disponível em: http://www.who.int/nutrition/publications/micronutrients/vitamin_a_deficiency/WHO_NUT_96.10/en/index.html. Acesso em : 18 de Fevereiro de 2012.

WWF, Brasil. **Comunicados do Ipea nº 96 Código Florestal : implicações do PL 1876/99 nas áreas de reserva legal**. Disponível em: http://d3nehc6yl9qzo4.cloudfront.net/downloads/08_jun_20011_comunicadoipea96_cf_reserva_legal.pdf. Acesso em 18 de fevereiro de 2012

YASAN, H.; ZHIJUAN, J.; SHUNXIN, L. Effective clarification of apple juice using membrane filtration without enzyme and pasteurization pretreatment. **Separation and Purification Technology**. 57: 366-373, 2007.

ZANATTA, A. Z. Determinação da composição de carotenoides e antocianinas de camu-camu (*Myrciaria dubia*). Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, para a obtenção do título de Mestre em Ciência de Alimentos, Campinas, 2004.

ZANINI, J. M. Reaproveitamento de águas de lavagem das lavadoras de garrafas das indústrias de bebidas. **Engarrafador moderno**. Santo André, 36: 8-13, 1994

ZUCCHI, M.I.; BRONDANI, R. P. V. e PINHEIRO, J.B. Genetic structure and gene flow in *Eugenia dysenterica* DC in the Brazilian Cerrado utilizing SSR markers. **Genetics and Molecular Biology**, 26(4): 449-457, 2003.