



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CEARÁ
REDE NORDESTE EM BIOTECNOLOGIA - RENORBIO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA**

CYNTIA LADYANE ALVES DE MOURA

**MACERAÇÃO ENZIMÁTICA DO PURÊ DE ABÓBORA (*Cucurbita moschata*)
PARA PRODUÇÃO DE NÉCTAR**

**FORTALEZA - CEARÁ
2015**

CYNTIA LADYANE ALVES DE MOURA

**MACERAÇÃO ENZIMÁTICA DO PURÊ DE ABÓBORA (*Cucurbita moschata*)
PARA PRODUÇÃO DE NÉCTAR**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia – Renorbio - da Universidade Estadual do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de doutora em Biotecnologia. Área de concentração: Biotecnologia Industrial

Orientador: Prof. Dr. Gustavo Adolfo Saavedra Pinto

Co-orientadora: Dra. Deborah dos Santos Garruti

FORTALEZA - CEARÁ

2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

Universidade Estadual do Ceará

Sistema de Bibliotecas

Moura, Cyntia Ladyane Alves de.

Maceração enzimática do purê de abóbora (*Cucurbita moschata*) para produção de néctar [recurso eletrônico] / Cyntia Ladyane Alves de Moura. - 2015.

1 CD-ROM: il.; 4 ¼ pol.

CD-ROM contendo o arquivo no formato PDF do trabalho acadêmico com 131 folhas, acondicionado em caixa de DVD Slim (19 x 14 cm x 7 mm).

Tese (doutorado) - Universidade Estadual do Ceará, Rede Nordeste de Biotecnologia, Doutorado em Biotecnologia, Fortaleza, 2015.

Área de concentração: Biotecnologia Industrial.
Orientação: Prof. Dr. Gustavo Adolfo Saavedra Pinto.

Coorientação: Prof.ª Dra. Deborah dos Santos Garruti.

1. abóbora. 2. néctar. 3. Celluclast 1.5 L. 4. Viscozyme L. I. Título.

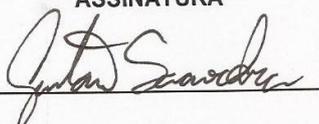
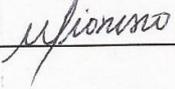
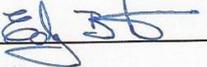
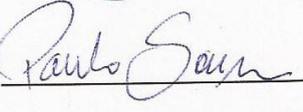
Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia
Universidade Estadual do Ceará
Av. Dr. Silas Munguba, 1700, Campus do Itaperi
60714-903, Fortaleza-CE - Telefone: (85) 3101.9645 - E-mail: renorbio.ce@uece.br

FOLHA DE APROVAÇÃO – Defesa de Tese

ALUNO: Cyntia Ladyane Alves de Moura

TÍTULO DO PROJETO: "Maceração Enzimática do Purê de Abóbora (*Cucurbita moschata*) para Produção de Néctar"

PROFESSOR ORIENTADOR: Gustavo Adolfo Saavedra Pinto

BANCA EXAMINADORA:	CONCEITO	CPF	ASSINATURA
Prof. Dr. Gustavo Adolfo Saavedra Pinto, EMBRAPA (Presidente)	<u>APROVADO</u>	<u>009.091.547-55</u>	
Profª. Drª. Deborah dos Santos Garruti, EMBRAPA (Co-orientadora)	<u>APROVADO</u>	<u>079.466.138-65</u>	
Profª. Drª Ana Paula Donísio, EMBRAPA (Examinadora)	<u>APROVADO</u>	<u>37084064890</u>	
Prof. Dr. Edy Sousa de Brito, EMBRAPA (Examinador)	<u>APROVADO</u>	<u>565.061.554-34</u>	
Prof. Dr. Paulo Henrique Machado de Sousa, UFC (Examinador)	<u>APROVADO</u>	<u>72740957300</u>	
Prof. Dr. Raimundo Wilane de Figueiredo, UFC (Examinador)	<u>APROVADO</u>	<u>14436680363</u>	

DATA DA APROVAÇÃO: 30 de setembro de 2015.

HORÁRIO: 13:00 h

LOCAL: Embrapa Agroindústria Tropical

Aos meus filhos Leonardo e Danilo.
Ao meu esposo Otávio.

“Bom mesmo é ir à luta com determinação, abraçar a vida com paixão, perder com classe e vencer com ousadia, por que o mundo pertence a quem se atreve. E a vida é muito bela para ser insignificante.”

(Charles Chaplin)

RESUMO

A abóbora é muito apreciada pelos consumidores por apresentar sabor suave e doce, além de seu alto valor nutritivo. Soma-se a isso seu elevado teor de compostos bioativos como polifenóis e carotenos. No entanto, a elevada consistência de sua polpa (purê) dificulta a produção de bebidas, uma vez que necessitam de intensa diluição para serem operacionalmente viáveis, fugindo dos padrões exigidos pela legislação vigente. Dessa forma, este estudo se propôs a tornar o purê de abóbora fluido pela maceração enzimática, determinando a melhor condição (concentração de Viscozyme L e Celluclast 1,5L, tempo e temperatura) através de planejamentos experimentais e análises sensoriais de seus néctares, além de avaliar a influência da maceração enzimática do purê de abóbora, estudando-se a caracterização do perfil dos compostos voláteis, carotenóides totais e polifenóis extraíveis totais das amostras de abóbora in natura, purê não macerado, purê macerado enzimaticamente e néctar. As preparações enzimáticas comerciais mostraram-se eficientes na maceração enzimática de purê de abóbora nos parâmetros estudados, contribuindo para a elevação do teor de grupos redutores totais e acidez devido à quebra das macromoléculas, principalmente quando utilizadas as combinações das enzimas pectinases e celulases. As condições de tratamento enzimático, escolhidas através de planejamento experimental e análise sensorial dos néctares foram: combinação de 500 ppm de Viscozyme L, 1250 ppm de Celluclast 1,5L, 45°C por 1,5 hora. Compostos como cetonas, aldeídos, álcoois e terpenos foram as principais classes de compostos voláteis detectados por SPME/GC-MS. O constituinte majoritário foi o geranil acetona. As etapas de maceração e formulação do néctar pouco influenciaram na degradação dos carotenóides totais quando comparados a abóbora in natura. Na análise de polifenóis observou-se um aumento desses compostos após maceração, possivelmente devido a desintegração das fibras facilitando uma maior extração. Objetivou-se, nesse estudo, desenvolver um processo de fluidificação do purê de abóbora para obtenção de uma bebida pronta para o consumo.

Palavras-chave: abóbora, néctar, Celluclast 1,5 L, Viscozyme L.

ABSTRACT

Pumpkin is greatly appreciated by consumers for presenting mild and sweet taste, in addition to its high nutritional value. Added to this its high content of bioactive compounds such as polyphenols and carotenoids. However, the high consistency of its pulp (puree) hampers the production of drinks, as requiring intense dilution to be operationally viable, fleeing the standards required by current legislation. Thus, this study aimed to make pumpkin puree fluid by enzymatic maceration, determining the best condition (concentration of Viscozyme L and 1.5 L Celluclast, time and temperature) through experimental design and sensory analysis of their nectars, and evaluate the influence of enzymatic maceration of pumpkin puree, studying the characterization of the profile of volatile compounds, total carotenoids and total extractable polyphenols from pumpkin samples fresh, not mash mash, mash mashed enzymatically and nectar. Commercial enzyme preparations were effective in enzymatic maceration of pumpkin puree in the studied parameters, contributing to raising the level of total reducing groups and acidity due to the breakdown of macromolecules, especially when used combinations of pectinase and cellulase enzymes. The conditions of enzyme treatment, selected via sensory analysis and experimental design nectars were: combination of 500 ppm of Viscozyme L, 1250 ppm of Celluclast 1.5L, 45 °C for 1.5 hour. Compounds such as ketones, aldehydes, alcohols and terpenes are the main classes of volatile compounds detected by SPME/GC-MS. The major constituent was the geranyl acetone. Steps maceration and formulation of nectar had little influence on the degradation of carotenoids when compared pumpkin raw. The polyphenol analysis showed an increase of these compounds after retting, possibly due to disintegration of the fibers will further facilitate the extraction. The objective of this study, develop a pumpkin puree the fluidization process for obtaining a beverage ready for consumption.

Keywords: pumpkin, nectar, Celluclast 1.5 L, Viscozyme L.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Detalhe para a variabilidade das variedades locais de abóbora com relação a tamanho, formato, cor e espessura da polpa e da epiderme e número de sementes/fruto.....	23
Figura 2 –	Estrutura da parede celular vegetal.....	30
Figura 3 -	Pontos de ataque das pectinases na molécula de pectina.....	32
Figura 4 -	Representação esquemática de um sistema celulolítico.....	33
Figura 5 -	Ação de diferentes tipos de xilanases hidrolisando tipos específicos de xilana, onde as setas indicam os locais de quebra.....	34
Figura 6 -	Esquema do consistômetro de Bostwick, com (a) o fluido carregado e (b) LM liberado e extensão medida de fluxo.	40
Figura 7 -	Estrutura química dos principais tipos de flavonóides.....	49
Figura 8 –	Fluxograma do processamento da abóbora para obtenção do purê	52
Figura 9 -	Etapas de obtenção do purê de abóbora: A) Abóbora in natura; B) Sanitização; C) Corte e retirada das sementes; D) Cocção; E) Despolpamento; F) Purê; G) Acondicionamento; H) Purê pronto para congelar.	53
Figura 10 –	Análise de consistência do purê de abóbora. A) Purê colocado no compartimento superior; B) e C) Após disparar a alavanca.	61
Figura 11 –	Fluxograma das etapas de maceração e análises	62
Figura 12 -	Etapas para obtenção do néctar de abóbora: A) Formulação; B) Pasteurização; C) Resfriamento; D) Acondicionamento.	65
Figura 13 –	Julgador recebendo as amostras em cabine individual.....	66
Figura 14 –	Diagrama de Pareto dos efeitos padronizados para o índice de fluidez (IF) do primeiro planejamento.	81
Figura 15 –	Diagrama de Pareto dos efeitos padronizados para liberação de Grupos Redutores Totais (GRT) do primeiro planejamento.	83
Figura 16 –	Diagrama de Pareto dos efeitos padronizados para a acidez do primeiro planejamento.....	84
Figura 17 –	Diagrama de Pareto dos efeitos padronizados para o índice de fluidez (IF) do segundo planejamento.	86
Figura 18 –	Diagrama de Pareto dos efeitos padronizados para os grupos redutores totais (GRT) do segundo planejamento.....	87

Figura 19 – Diagrama de Pareto dos efeitos padronizados para a acidez do segundo planejamento.....	88
Figura 20 - Histogramas de frequência das categorias da escala hedônica (A e B) e da escala do ideal atribuídas à consistência (C) para amostras de néctar de abóbora com 30% de purê macerado.....	92
Figura 21 - Histograma de frequência das categorias na escala hedônica (A e B) e escala do ideal atribuída à consistência (C), para amostras de néctar de abóbora com 50% de purê macerado.	94
Figura 22 – Diagrama de Pareto dos efeitos padronizados para o índice de Fluidez (IF) do terceiro Planejamento	97
Figura 23 – Histograma de frequência das categorias na escala hedônica dos testes aceitação da consistência (A) e aceitação do sabor (B)	98
Figura 24 – Histograma de frequência das categorias na escala hedônica (A) e escala do ideal atribuído a consistência (B).	99
Figura 25 – Perfil dos julgadores em relação aos atributos de diferença entre as amostras.....	100
Figura 26 – Área total de compostos voláteis encontrados em cada classe química para as diferentes amostras de abóbora.	103
Figura 27 - Gráfico dos componentes principais da ACP dos compostos voláteis das amostras de abóbora in natura, purê não macerado, purê macerado enzimaticamente e do néctar com purê macerado....	106

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição centesimal média (g/100g) da polpa de abóbora	24
Tabela 2 – Valores utilizados no primeiro Delineamento Composto Central (DCC)	63
Tabela 3 – Valores utilizados no segundo Delineamento Composto Central (DCC)	64
Tabela 4 – Valores utilizados no terceiro Delineamento Composto Central (DCC)	67
Tabela 5 – Caracterização química e físico-química do purê de abóbora, em base úmida.....	71
Tabela 6 – Atividade enzimática da preparação enzimática Pectinex XXL.....	73
Tabela 7 – Avaliação da consistência e valores de grupos redutores totais (GRT) do purê de abóbora sem enzima e macerado com 4000 ppm de Pectinex XXL.....	74
Tabela 8 – Avaliação da consistência, Aw e umidade de amostras de purê de abóbora sem enzima.....	74
Tabela 9 – Atividade enzimática das preparações enzimáticas Pectinex XXL e Viscozyme L.....	76
Tabela 10 – Avaliação da consistência e valores de grupos redutores totais do purê de abóbora não macerado e macerado enzimaticamente com 4000 ppm de Viscozyme L.....	77
Tabela 11 – Atividade enzimática das preparações enzimáticas, Viscozyme L, e Celluclast 1,5 L.....	78
Tabela 12 – DCC 2 ⁴ para o índice de fluidez (IF), grupos redutores totais (GRT) e acidez total (AT) do primeiro planejamento.....	80
Tabela 13 – Temperatura ótima de ação das enzimas	82
Tabela 14 – Delineamento fatorial 2 ⁴ para o índice de fluidez (IF), grupos redutores totais (GRT) e acidez total (AT) do segundo planejamento.....	89
Tabela 15 - Médias dos valores hedônicos dos testes de aceitação da consistência e aceitação global do néctar de abóbora com 30% de purê macerado	90

Tabela 16 - Médias dos testes de aceitação global e da consistência do néctar de abóbora com 50% de purê macerado	93
Tabela 17 – Delineamento fatorial 2^3 para o índice de fluidez (IF) do terceiro planejamento.....	96
Tabela 18 - Médias dos testes de aceitação da consistência, do sabor e global do néctar de abóbora com 50% de purê macerado.	98
Tabela 19 - Compostos voláteis detectados na abóbora in natura, purê de abóbora diluído não macerado, purê de abóbora diluído macerado e no néctar.	101
Tabela 20 – Resultado da análise de carotenoides totais.....	107
Tabela 21 – Resultado da análise de polifenóis extraíveis totais (PET).....	109

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	OBJETIVOS	21
2.1	GERAL.....	21
2.2	ESPECÍFICOS.....	21
3	REVISÃO DE LITERATURA	22
3.1	ABÓBORA.....	22
3.2	SUCOS E NÉCTARES	25
3.3	SUCO DE ABÓBORA.....	29
3.4	PAREDE CELULAR VEGETAL E SUAS ESTRUTURAS.....	29
3.5	ENZIMAS.....	31
3.6	MACERAÇÃO ENZIMÁTICA	35
3.7	AVALIAÇÃO DA CONSISTÊNCIA.....	39
3.8	AVALIAÇÃO SENSORIAL	41
3.9	COMPOSTOS VOLÁTEIS.....	42
3.10	COMPOSTOS FUNCIONAIS	44
3.10.1	Sucos funcionais	44
3.10.2	Carotenoides	47
3.10.3	Compostos fenólicos	49
4	MATERIAL E MÉTODOS	51
4.1	MATERIAL.....	51
4.1.1	Abóbora	51
4.1.2	Reagentes e preparações enzimáticas	51
4.2	OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO PURÊ DE ABÓBORA	51
4.3	ANÁLISES QUÍMICAS E FÍSICO-QUÍMICAS	53
4.3.1	Umidade	53
4.3.2	Atividade de água (Aw)	54
4.3.3	pH	54
4.3.4	Sólidos solúveis (°Brix)	54
4.3.5	Cinzas	54
4.3.6	Acidez titulável (AT)	54
4.3.7	Extrato etéreo	55
4.3.8	Grupos redutores totais (GRT)	55

4.3.9 Açúcares totais	55
4.3.10 Pectina, hemicelulose e celulose + lignina (AIR)	56
4.3.11 Amido.....	57
4.4 CARACTERIZAÇÃO DAS PREPARAÇÕES ENZIMÁTICAS	57
4.4.1 Poligalacturonases	58
4.4.2 Pectinametilesterases	58
4.4.3 Pectinaliases	58
4.4.4 Celulases	59
4.4.5 Xilanases	59
4.4.6 Amilases	60
4.5 ANÁLISE DA CONSISTÊNCIA.....	60
4.6 AVALIAÇÃO DA MACERAÇÃO ENZIMÁTICA.....	61
4.6.1 Ensaios preliminares.....	62
4.6.2 Redução da consistência do purê de abóbora	63
4.6.3 Desenvolvimento do néctar de abóbora	64
4.6.4 Terceiro Planejamento	66
4.7 ANÁLISE DOS COMPOSTOS VOLÁTEIS SPME – CG.....	67
4.7.1 Preparo das amostras	67
4.7.2 Metodologia.....	68
4.8 ANÁLISE DE CAROTENÓIDES TOTAIS	69
4.9 ANÁLISE DE POLIFENÓIS EXTRAÍVEIS TOTAIS (PET).....	69
4.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	70
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	71
5.1 CARACTERIZAÇÃO DO PURÊ DE ABÓBORA.....	71
5.2 ENSAIOS PRELIMINARES	72
5.2.1 Utilização de Pectinex XXL na maceração enzimática do purê de abóbora.....	72
5.2.2 Substituição de Pectinex XXL por Viscozyme L na maceração enzimática do purê de abóbora	76
5.3 AVALIAÇÃO DA MACERAÇÃO ENZIMÁTICA.....	78
5.3.1 Primeiro planejamento experimental utilizando as enzimas Celluclast 1,5 L e Viscozyme L	79

5.3.2 Segundo planejamento experimental utilizando menores concentrações das enzimas Celluclast 1,5 L e Viscozyme L, com aumento da temperatura	85
5.3.3 Terceiro planejamento experimental utilizando as enzimas Celluclast 1,5 L e Viscozyme L, com redução do tempo:.....	95
5.4 AVALIAÇÃO DO EFEITO DAS ETAPAS DO PROCESSAMENTO DO NÉCTAR MACERADO NO PERFIL DOS COMPOSTOS VOLÁTEIS (SPME – CG).....	101
5.5 AVALIAÇÃO DO EFEITO DAS ETAPAS DO PROCESSAMENTO DO NÉCTAR MACERADO NOS TEORES DE CAROTENOIDES TOTAIS E POLIFENÓIS EXTRAÍVEIS TOTAIS (PET).....	107
5.5.1 Carotenoides totais	107
5.5.2 Polifenóis extraíveis totais.....	108
6 CONCLUSÃO.....	110
REFERÊNCIAS.....	111
APÊNDICES	125
APÊNDICE A - Modelo de ficha sensorial para os testes de aceitação da consistência, aceitação global e escala do Ideal do néctar de abóbora.....	125
APÊNDICE B- Modelo de ficha sensorial para os testes simples diferença e comparação pareada preferência do néctar de abóbora	126
APÊNDICE C–TCLE do néctar de abóbora utilizado na avaliação sensorial ...	127
APÊNDICE D – Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual do Ceará.....	128

1 INTRODUÇÃO

A produção mundial de abóboras, em 2010, foi de 22,4 milhões de toneladas, cultivadas em área de 1,67 milhão de hectares, proporcionando uma produtividade média de $13,4 \text{ t ha}^{-1}$. Em estudo realizado por Resende, Borges e Gonçalves (2013) avaliaram acessos e cultivar de abóbora do semiárido do Vale do São Francisco onde a maior produtividade foi obtida pelo acesso A612 ($17,3 \text{ t ha}^{-1}$), seguida pelo acesso A422 ($15,2 \text{ t ha}^{-1}$), valores superiores à produtividade média nacional ($4,4 \text{ t ha}^{-1}$) com valor da produção de 1,52 milhões de reais, cultivada em mais de 127 mil estabelecimentos agropecuários. Os estados do Nordeste representaram 24,1% da produção nacional, sendo os maiores produtores a Bahia, Maranhão e Pernambuco. Suas plantas são anuais e seus frutos podem ser consumidos tanto maduros como imaturos. A pesquisa de Orçamento Familiar 2008-2009, realizada pelo IBGE (2010) concluiu que o consumo per capita de hortaliças no Brasil foi de 27,08 kg, sendo a participação da abóbora de 1,19 kg, com maior consumo no Nordeste com 1,24 kg, e maior expressão no Piauí, com 2,62 kg (RESENDE *et al.*, 2013; RAMOS *et al.*, 2000).

No Brasil, a produção de abóboras é alta, principalmente entre os pequenos agricultores e, especialmente, das espécies *Cucurbita moschata* e *Cucurbita maxima*. Apesar de seus aspectos nutricionais e baixo custo de produção, existem poucos produtos feitos de abóboras no mercado e o consumo de abóboras se limita a ser na forma de frutas frescas ou geléia. O purê de abóbora, obtido por meio de esterilização comercial da polpa de abóbora, é um produto com valor agregado e conveniente, uma vez que podem ser facilmente incorporados em preparações, tais como pães, massas e doces. Além disso, a tecnologia para a sua produção é acessível para pequenas e médias agroindústrias (PROVESI, 2011).

Um problema sério no tratamento industrial de suco de frutas é a liberação de pectina no suco. A pectina é um polissacarídeo estrutural heterogêneo presente nas paredes celulares da polpa e é responsável por cerca de 4% do peso total dos frutos frescos e até 35% de paredes celulares. Esse hidrato de carbono, complexo composto por moléculas de ácidos pécticos, é conhecido por ser responsável por características indesejáveis, tais como sucos de alta viscosidade,

turvação e nebulosidade (KASHYAP *et al.*, 2001). A adição de enzimas pectinolíticas é a via tecnológica para superar estes efeitos indesejáveis, além de melhorar a extração de carotenóides a partir de tecidos de frutos e contribuir para a estabilização da turbidez. Extração de suco e clarificações são os principais usos para enzimas pectinolíticas. Alguns artigos estão disponíveis sobre o processamento de frutas tropicais utilizando enzimas pectinolíticas, a maioria deles está na liquefação de carambola, banana, manga e sapoti. A hidrólise enzimática das substâncias pécticas é influenciada por vários fatores, tais como temperatura, pH, concentração de enzima e tempo de incubação (UMSZA-GUEZ *et al.*, 2011).

É vantajoso usar enzimas na indústria, porque elas são naturais, não tóxicas e específicas para determinadas ações. O uso de enzimas em processos industriais é de grande interesse, em especial devido à facilidade de obtenção (por biotecnologia) e as vantagens em relação aos catalisadores químicos, como menor consumo energético e maior velocidade de reação. A catálise enzimática tem ainda outros benefícios em relação à catálise química, como o aumento da qualidade dos produtos, a redução dos custos de laboratório e de maquinário, devido à melhoria do processo; ou a fabricação controlada de pequenas quantidades. Além disso, são capazes de alterar as características de variados tipos de resíduos, contribuindo para reduzir a poluição ambiental (MUSSATO *et al.*, 2007).

Maceração enzimática tem importância considerável no processamento de frutas, legumes e hortaliças para a produção de néctares e polpas. Enzimas de maceração hidrolisam a pectina da parede celular e os componentes solúveis dessas matérias-primas, conduzindo a uma diminuição da viscosidade dos hidrolisados (SHAVAKHI *et al.*, 2011).

O tratamento enzimático conduz a uma extensa degradação da lamela média e da pectina das paredes celulares por ação de poligalacturonase, pectina metil esterase e pectina liase. O efeito sinérgico da combinação de pectinases, hemicelulases e celulases é um processo crucial na maceração enzimática da polpa para uma quase completa liquefação das frutas e hortaliças. A hidrólise enzimática das paredes celulares aumenta o rendimento de extração, diminui o conteúdo de açúcares, matéria seca solúvel, ácidos galacturônicos e acidez titulável. A polpa resultante tem baixa viscosidade (UENOJO; PASTORE, 2007).

A elevada consistência de algumas matérias-primas dificulta a produção de suas bebidas, pois necessitam de intensa diluição para serem operacionalmente viáveis e, conseqüentemente, tornam-se fora dos padrões exigidos pela legislação. Essa é uma questão que requer estudos voltados para reduzir a consistência dessas matérias-primas. O tratamento enzimático mostra-se como uma possibilidade para reverter esse quadro, pois enzimas são capazes de quebrar as moléculas responsáveis pela sustentação e firmeza dos tecidos vegetais, reduzindo a sua consistência de maneira limpa e sem utilização de altas taxas de energia (AQUINO *et al.*, 2014).

Enzimas de maceração são aplicadas após o corte da matéria-prima para macerar a polpa até a liquefação parcial ou total da fruta, diminuindo o tempo de processamento e melhorando a extração dos componentes da fruta. Após a extração, pectinases são adicionadas para clarificação e diminuição de viscosidade, facilitando a filtração e concentração (BHAT, 2000).

A população mundial tem atentado para o fato de que os alimentos, além de nutrirem, proporcionam outros benefícios à saúde, devido à presença de compostos biologicamente ativos. A intensa busca por tais alimentos deve-se ao descobrimento dos radicais livres, ou espécies reativas do oxigênio e nitrogênio, geradas naturalmente no nosso organismo pela oxidação que ocorre na via aeróbica ou por alguma disfunção biológica. O excesso desses radicais causa prejuízos ao organismo, como peroxidação lipídica da membrana, e danos a proteínas, complexos enzimáticos, carboidratos e, principalmente, ao DNA, que culmina com o processo degenerativo da célula (BARREIROS; DAVID, 2006).

Apesar da preferência por produtos frescos, a compra de alimentos processados, congelados e refrigerados aumentou com o crescimento econômico. Mais produtos que são convenientes e fáceis de preparar precisam ser desenvolvidos para atender a crescente demanda do mercado, e uma alternativa viável é a produção de alimentos tradicionais apresentados em uma maneira conveniente (SILVA, 2012).

Considerando a necessidade de oferta de frutos e hortaliças que atendam aos requerimentos dos diferentes mercados, uma caracterização necessita incluir elementos relativos à qualidade, cujo conceito tem incorporado novos componentes nos últimos anos. Recentemente, o termo qualidade dos diferentes produtos

agrícolas agregou, além dos componentes tradicionais de aparência e sabor, características como teores de vitamina C, carotenoides, compostos fenólicos, fibras e sais minerais, entre outros, que precisam ser conhecidas e divulgadas. A divulgação das propriedades químicas de frutos e hortaliças tem estimulado o seu consumo visando à prevenção de algumas doenças, uma vez que a população mundial começou a perceber os benefícios adicionais à saúde por possuírem compostos ou elementos biologicamente ativos ((AMARIZ *et al.*, 2009; AMARIZ, 2011).

Carvalho *et al.* (2006) descrevem os alimentos funcionais como sendo aqueles que beneficiam uma ou mais funções orgânicas, além da nutrição básica, contribuindo para melhorar o estado de saúde e bem-estar e/ou reduzir o risco de doenças, podendo ser naturais, modificados pela adição ou remoção de um componente, ou, ainda apresentar alguma alteração da natureza ou da biodisponibilidade de um ou mais componentes.

As hortaliças são alimentos que possuem pouca gordura, calorias, proteína, mas são ricas em carboidratos, fibras e compostos funcionais, fornecendo níveis significativos de micronutrientes à dieta. Vários problemas de saúde estão associados à atuação de formas tóxicas de oxigênio, os oxidantes, que causam processos de oxidação e podem obstruir artérias, transformar células saudáveis em cancerígenas, afetar o sistema nervoso e causar o envelhecimento precoce. O organismo possui sistemas de defesa enzimáticos específicos, e também conta com a ação dos antioxidantes, substâncias que neutralizam os radicais livres ou oxidantes (CARVALHO *et al.*, 2006).

Os voláteis afetam diretamente a qualidade sensorial dos produtos frescos e processados, o aroma dos quais é formado por um conjunto complexo de substâncias químicas (por exemplo, aldeídos, álcoois, cetonas, ésteres, lactonas, terpenos). Por isso, a cadeia de transformação da produção de frutas e derivados exige simples e elevada capacidade de procedimentos analíticos que permitem a caracterização de perfis voláteis. Uma rápida análise dos componentes de aroma pode melhorar a padronização de qualidade e proporcionar uma relação entre os conteúdos sensoriais e voláteis. No entanto, os métodos de análise utilizados não são práticos para fins de controle de qualidade (RIU-AUMATELL *et al.*, 2004).

Do ponto de vista químico, os compostos voláteis podem ser derivados de aminoácidos, ácidos graxos, carboidratos e carotenóides. Constituem um grupo heterogêneo de compostos, com cadeia linear, ramificada, aromática e heteroaromática apresentando grupos químicos diferentes, como hidroxila, carbonila, carboxila, éster, lactona, amina, e funções tiol. (PIRES *et al.*, 2013).

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

Desenvolver um processo de fluidificação do purê de abóbora para obtenção de uma bebida pronta para o consumo.

2.2 ESPECÍFICOS

1. Avaliar o efeito da maceração com preparações enzimáticas comerciais na redução da consistência do purê de abóbora.
2. Desenvolver uma bebida pronta para o consumo (néctar) a partir do purê macerado enzimaticamente, baseando-se na aceitabilidade sensorial.
3. Avaliar o efeito das etapas de processamento no perfil dos compostos voláteis e nos teores de carotenoides totais e polifenóis extraíveis totais.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 ABÓBORA

As abóboras pertencem ao gênero *Cucurbita* (família *Cucurbitaceae*), que compreende várias espécies silvestres e domesticadas nativas das Américas. Cinco espécies de *Cucurbita* foram domesticadas há milhares de anos e compreendem as hortaliças conhecidas como abóboras, morangas, gilas, mogangos e abóboras ornamentais: *Cucurbita maxima*, *Cucurbita moschata*, *Cucurbita ficifolia*, *Cucurbita argyrospermae* *Cucurbita pepo* (BARBIERI, 2015).

Essa família compreende cerca de 126 gêneros e 1.280 espécies, com destaque para a abóbora (*Cucurbita moschata*) (BELÉM *et al.*, 2008). Considerada um fruto, a abóbora tem a sua origem na América Central. A aboboreira é uma planta rasteira da família das cucurbitáceas, a mesma da melancia, do melão, do chuchu e do pepino. A forma da abóbora é variável, mas normalmente é ovóide ou oblonga. A casca é geralmente laranja mas pode apresentar outras colorações. É um alimento muito rico nutricionalmente, baixo em calorias e 96,6% da sua composição total é água. É uma importante fonte de vitaminas e minerais, sendo especialmente rica em vitamina A, C e E, carotenóides, potássio, magnésio e cálcio. A cor laranja vivo da abóbora está relacionada a um elevado conteúdo de carotenóides, particularmente o beta-caroteno, com ação antioxidante (INSA, 2010).

Os frutos de *Cucurbita moschata*, conhecidos popularmente como abóbora-de-pescoço, moranga ou abóbora-menina, representam uma importante reserva de alimento para animais domésticos (principalmente suínos e bovinos), além de serem bastante utilizados no preparo de doces – em calda e em pasta – e também de pratos salgados (quibebe, sopas e cozidos) (BARBIERI, 2015).

Na Região Nordeste do Brasil, a abóbora (*C. moschata*) é também conhecida como abóbora de leite ou jerimum de leite e a espécie *C. maxima*, que na região Sul e Sudeste do Brasil é popularmente conhecida como moranga, tem a denominação de jerimum ou jerimum caboclo. O vocábulo “jerimum” provém do tupi “yurum-um”, que significa o pescoço escuro (RAMOS *et al.*, 2010).

Os frutos podem ser comercializados e consumidos na forma imatura ou madura. Com a polpa dos frutos imaturos são preparados pratos salgados e os

frutos maduros são utilizados tanto na elaboração dos pratos salgados quanto em doces caseiros ou industrializados. A polpa também pode ser utilizada na alimentação animal. Contudo, outras partes da planta também podem ser consumidas (RAMOS *et al.*, 2010). Algumas variedades de abóbora são mostradas na Figura 1.

Figura 1 - Detalhe para a variabilidade das variedades locais de abóbora com relação a tamanho, formato, cor e espessura da polpa e da epiderme e número de sementes/fruto.



Fonte: RAMOS *et al.*, 2010.

A abóbora se destaca por sua riqueza em provitamina A, vitaminas do complexo B (B1, B2 e B5), vitamina C e outros nutrientes como proteína, hidratos de carbono, gorduras, fibra alimentares e minerais tais como, fósforo, potássio, cálcio, sódio, silício, magnésio, ferro e cloro. Esta hortaliça apresenta ainda carotenoides que são pigmentos lipossolúveis com coloração que varia do amarelo ao vermelho, presentes em frutas e outros vegetais e que desempenham importante papel na saúde humana (SILVA *et al.*, 2010; VERONEZI; JORGE, 2011). Os carotenóides e vitamina C presentes na hortaliça possuem propriedades antioxidantes. Muitas vezes, as hortaliças são consumidas na forma crua, mas há situações em que a cocção é necessária ou ainda preferida, como ocorre para a abóbora. Neste caso, o conteúdo e a capacidade dos nutrientes desses vegetais podem ser alterados, com consequências positivas e negativas, tal como a melhoria da capacidade de

compostos naturalmente presentes, a formação de novos compostos com atividade nutricional ou a perda de nutrientes naturalmente presentes (DAIUTO *et al.*, 2012).

Abóbora é um alimento que pode ser incluído em nossa dieta diária, oferecendo vários benefícios para melhorar a nossa saúde em geral. Entre eles estão os efeitos anti-diabéticos, anti-cancerígena, anti-oxidante e potencial anti-microbiano. É muito apreciada pelos consumidores por seu sabor suave e doce e seu alto valor nutritivo, além de alto teor de compostos fitoquímicos como polifenóis ou carotenos ((YADAV *et al.*, 2010; CONTADOR *et al.*, 2014).

A composição centesimal média da abóbora é incluída na Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO, 2011), e é apresentada na Tabela 1. A composição química da abóbora, bem como a de outros vegetais, possui uma grande variabilidade, inclusive dentro de uma mesma espécie, dependendo de uma série de fatores como variedade, clima, solo, época de colheita e outros (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Tabela 1 - Composição centesimal média (g/100g) da polpa de abóbora

Componente	Abóbora 'Menina Brasileira' crua	Abóbora 'Exposição' crua
Umidade	95,7	95,9
Proteína	0,6	1,0
Carboidratos	3,3	2,7
Lipídeos	<0,1	0,1
Fibra bruta	1,2	1,7
Cinzas	0,4	0,4

Fonte: TACO (2011).

Abóboras são cultivadas para consumo direto ou para a preparação de outros alimentos, como xaropes, geléias, compotas e polpas. Eles são geralmente processados por um tratamento térmico para aumentar a sua vida de prateleira; no entanto, também reduz as qualidades sensoriais e nutritivas do produto processado. Hoje em dia, os consumidores exigem alta qualidade e produtos convenientes com aroma natural e sabor, e apreciam muito a aparência fresca de alimentos minimamente processados. Além disso, eles procuram por produtos seguros e naturais, sem aditivos. O projeto de novas tecnologias para aumentar as propriedades saudáveis de produtos de origem vegetal permitiria a fabricação de produtos com elevado valor acrescentado que possa atender às necessidades dos consumidores (CONTADOR *et al.*, 2014)

A abóbora é bastante consumida nos Estados Unidos, na fabricação de tortas de preparo rápido. Uma agroindústria que produz purê de cenoura pode, com pequenos investimentos, produzir também o purê de abóbora. Assim, atender ao mercado que demanda purê de abóbora pode representar uma opção a mais para o investimento na agroindústria de purê de cenoura (CODEVASF, 2008).

Na China existem patentes que descrevem formas para as várias utilizações de abóbora, como por exemplo a produção de purê, néctar, suco e fermentado de abóbora, assim como sucos de abóboras adicionados de sucos de frutas ou hortaliças.

UNIVERSITY JIANGNAN (2005) descreve a utilização da tecnologia de engenharia de enzimas, com a aplicação de complexos enzimáticos e a mistura de tecnologias de liquefação enzimática, adicionando à polpa de abóbora enzimas celulases e de preparações que consistem de enzimas pectinases e amilases, controlando o processo enzimático pela viscosidade e turbidez. Os autores comentam das vantagens de que é uma tecnologia fácil de operar, de modo que o suco de abóbora mantenha alta qualidade, estabilidade de cor. As preparações pectinases utilizadas foram Pectinex Ultra SP-L, Pectinex Smash e Citozyme Cloudy 100L.

LI CHUANSHENG (2006) descreve o vinho tinto fermentado de abóbora e seu processo de fermentação, onde é utilizado o suco de abóbora, açúcar, amilase, pectinase, celulase, sacarificação enzimática e fermento de vinho de fruta em certa proporção de peso, é azedo, doce e saboroso, e tem baixo teor de álcool 7,0-13,0% em volume e teor de açúcar de 20,1-200 g/L.

3.2 SUCOS E NÉCTARES

Há uma tendência de contínua expansão do mercado de sucos prontos para beber, já que são produtos que atendem as necessidades do mundo moderno, pela praticidade que oferecem além de constituírem uma alternativa saborosa e nutritiva aos refrigerantes (PIRILLO; SABIO, 2009).

A lei nº 8918 de 14 de julho de 1994 dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. Define suco ou sumo como bebida não fermentada, não concentrada e não diluída, obtida da fruta madura e sã, ou parte do vegetal de origem, por processamento tecnológico adequado, submetida a tratamento que assegure a sua apresentação e conservação até o momento do consumo (BRASIL, 1994).

O suco propriamente dito é apenas aquele que apresenta 100% de suco de fruta ou hortaliça em sua composição, salvo as exceções de frutas muito viscosas que necessitam de diluição do seu suco ou polpa (parte carnuda das frutas), como é o caso da manga e da goiaba (PIRILLO e SABIO, 2009).

A produção de sucos de frutas, legumes e hortaliças é importante tanto do ponto de vista da saúde humana e comercial. A disponibilidade de componentes nutritivos de frutas e legumes para uma ampla gama de consumidores é assim facilitada ao longo do ano pela comercialização de seus sucos (BHAT, 2000).

O Art. 3º, da Instrução Normativa nº 12, define que: “o néctar cuja quantidade mínima de polpa de uma determinada fruta não tenha sido fixada em Regulamento Técnico específico deve conter no mínimo 30% (m/m) da respectiva polpa, ressalvado o caso de fruta com acidez ou conteúdo de polpa muito elevado ou sabor muito forte e, neste caso, o conteúdo de polpa não deve ser inferior a 20% (m/m)” (BRASIL, 2015).

A produção e conservação de néctares de frutas e purês são de grande importância comercial para atrair uma ampla gama de consumidores e em particular para usar os frutos, que são facilmente perecíveis. Muitas frutas tropicais não são facilmente prensadas, sendo muito ácida ou fortemente aromatizada para ser usada para produzir bebidas agradáveis sem diluição, mistura ou ambos. No entanto, o suco de frutas tropicais é delicioso após a diluição ou mistura com outros sucos de frutas. Alguns bons exemplos destes são de damasco, pêsego, pêra, ameixa, manga, goiaba, mamão e banana. Uso de maceração enzimática não só melhora a estabilidade, textura e facilita a concentração de néctares e purês, mas também diminui a sua viscosidade rapidamente. Assim, uma combinação adequada de enzimas de maceração está prevista para ser ideal para a produção de néctares de frutos e purês (BHAT, 2000).

Devido ao crescente interesse do consumidor em um estilo de vida mais saudável, as perspectivas de consumo de sucos estão previstas para ser favorável. Suco de laranja e maçã continuam a ser os sucos de frutas mais importantes consumidos na Europa, representando, em 2007, 40,5% e 18,1% do mercado de suco de frutas, respectivamente. Além de um crescimento constante do consumo de sucos de frutas "tradicionais", nos últimos anos, tem havido uma crescente demanda por sucos de frutas inovadoras com novas e exóticas combinações de frutas. Introduções de novas bebidas com flavares tropicais aumentou entre 2003 e 2007. Isto se reflete pelo aumento do número de lançamentos de novos produtos na nova categoria de bebidas de frutas. Exemplos concretos é o aumento da introdução de suco de frutas que contêm açaí, acerola e guaraná (SABBE; VERBEKE; DAMME,2009).

O mercado nacional de sucos prontos para beber atinge um patamar de aproximadamente 250 milhões de litros por ano. Porém, existe certa resistência do consumidor brasileiro na aquisição de tais bebidas, dada a facilidade existente para a compra de grande variedade de frutas frescas a preços acessíveis durante todo o ano. Além disso, o valor unitário dos sucos industrializados, relativamente elevado, direciona seu consumo principalmente às classes A e B, deixando cerca de 70% dos seus consumidores na região Sudeste (CAMARGO *et al.*, 2007).

A categoria de suco de frutas/néctares aumentou em quase todos os países da União Européia (UE). O mercado de sucos de frutas da UE e néctares teve 11,3 bilhões de litros em 2009. As vendas de suco de fruta 100% responsáveis por dois terços do consumo total (de um total de 7,5 bilhões de litros) e néctares, contendo 25-99% de teor de suco, teve o restante 3,8 bilhões de litros. Na Turquia, o setor de suco de frutas tem um papel importante no mercado de alimentos e bebidas funcionais e a capacidade de produção aumentou rapidamente. Consumo de suco de fruta por pessoa foi de 4,4 L em 2000 e alcançou a 10,1 L em 2007. Especialmente, as renovações nos projetos de produtos e o desenvolvimento da indústria de suco de fruta foram as razões desse progresso (SUNA *et al.*, 2013).

O mercado global de sucos e néctares movimentou 37,2 bilhões de litros ao ano, e a América Latina participa com 2 bilhões. O consumo de sucos concentrados à base de frutas, legumes e hortaliças tem crescido anualmente, e se apresenta como novo segmento do mercado mundial de bebidas. Em 2006, o

crescimento do consumo mundial de suco de vegetais, combinados com suco de frutas, chegou a cerca de 5,3 bilhões de litros, com destaque para o mercado asiático, que apresentou crescimento no consumo de 3,4 bilhões de litros, seguido pelo europeu de 1,4 bilhão de litros. A América Latina alcançou uma marca de 742 milhões de litros, ficando à frente da África e Austrália com um consumo de 732 milhões e 65 milhões de litros respectivamente. Para os próximos anos, a expectativa é que esse crescimento continue, principalmente nos países emergentes. O maior mercado atualmente é a América do Norte, apresentando um consumo per capita de 41 litros (CODEVASF, 2008).

Os consumidores cada vez são mais exigentes com a qualidade dos produtos que ingerem e mais conscientes sobre a relação entre alimentação e saúde. Por um lado, primam que o produto tenha uma alta qualidade nutritiva e sensorial, e procuram prontos para o consumo que contenham poucos aditivos químicos, que sejam seguros, econômicos, e que não causem danos ao meio ambiente. Portanto, o desenvolvimento de tecnologias que aumentem as propriedades benéficas dos produtos e atendam a todas as demandas dos consumidores, resultaria na obtenção de produtos de maior valor agregado que despertariam novas expectativas para a agricultura e para a indústria (BINOTI, 2012).

A crescente demanda na Europa para produtos alimentares e bebidas saudáveis e nutritivos com novos sabores, cria oportunidades para abastecer o mercado europeu com sucos de frutas novos. Oportunidades decorrem de crescente interesse do consumidor em sucos naturais, saudáveis e nutritivos de frutas, a necessidade de inovações orientadas para a saúde na indústria de alimentos e crescente interesse em variedade, novos gostos e comidas típicas (SABBE *et al*, 2009).

O mercado brasileiro de suco de fruta industrializado vem crescendo rapidamente nos últimos anos. O suco pronto para beber é o principal responsável por essa expansão, que vem acompanhando a tendência mundial de consumo de bebidas que oferecem saúde, conveniência, sabor, inovação e prazer. Os sucos devem atender à legislação específica, estando de acordo com definição, classificação, registro, padronização e requisitos de qualidade, devendo também

atender à legislação sobre rotulagem de alimentos embalados (FERRAREZI *et al*, 2010).

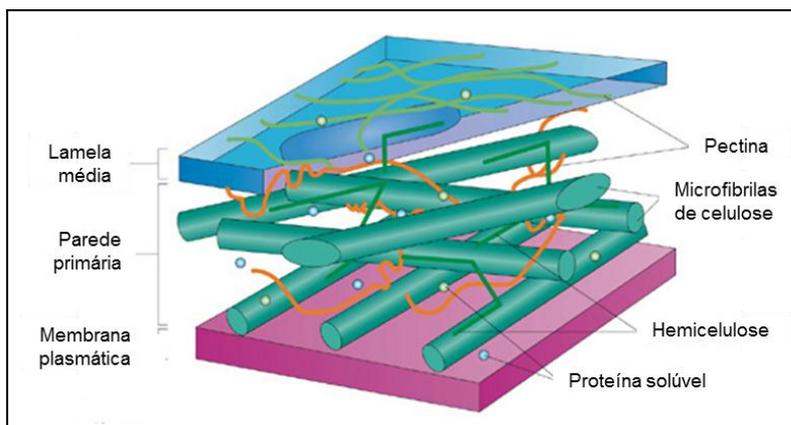
3.3 SUCO DE ABÓBORA

Zhang (2003) utilizou dois tipos de métodos enzimáticos com preparações celulolítica e pectolítica para preparar sucos de abóbora. Estes métodos melhoram o rendimento e a qualidade do suco de abóbora. A ultra microestrutura da célula da polpa de abóbora foi observada usando um microscópio eletrônico de varredura. O efeito das enzimas sobre a quebra da parede celular foi melhor usando a combinação de duas enzimas do que qualquer uma delas sozinha. O efeito sinérgico da combinação das duas enzimas foi devido a cooperação na hidrólise enzimática de pectina, celulose e hemicelulose coexistindo na parede celular primária e lamela média de parede celular. O rendimento do suco de abóbora foi aumentado em 20% e a cor e a estabilidade da turbidez para o suco foram melhorados significativamente usando a tecnologia de hidrólise enzimática.

3.4 PAREDE CELULAR VEGETAL E SUAS ESTRUTURAS

A parede celular vegetal é composta por uma mistura de polissacarídeos, proteínas, compostos fenólicos e sais minerais. Os polissacarídeos representam cerca de 90% do peso seco da parede e consistem em celulose, que compõe de 20 a 40% da parede celular, hemiceluloses (15-25%) e pectinas (~30%) (Figura 2). Essa matriz é altamente ordenada e dinâmica podendo tornar-se mais rígida ou mais frouxa conforme as necessidades da planta (BUCKERIDGE, 2010). Além dos polissacarídeos, a parede celular é também impregnada pela lignina, um polímero aromático que fornece rigidez à planta.

Figura 2 – Estrutura da parede celular vegetal



Fonte: nature.com (2015)

A pectina consiste em uma estrutura de ligações axiais de unidades de ácido α -1,4-D-galacturônico e contém moléculas de L-ramnose, arabinose, galactose e xilose como correntes laterais (UENOJO; PASTORE, 2007).

A celulose é um polímero de glicose unido por ligações glicosídicas β 1-4, rígida e muito resistente à hidrólise, reunido por ligações de hidrogênio em microfibrilas longas (7.000-15.000 unidades monoméricas de glicose) de cerca de 3-4nm de diâmetro. As microfibrilas têm regiões cristalinas e não cristalinas. As microfibrilas de celulose estão alinhadas e unidas em macrofibrilas por uma matriz de hemicelulose ou pectina (ZDUNEK *et al.*, 2014).

A hemicelulose é um polímero de baixa massa molecular composto por pentoses, hexoses, e/ou ácidos urônicos e mais susceptível à hidrólise quando comparada à celulose, uma vez que apresenta menor grau de polimerização. Por fim, a lignina é uma substância hidrofóbica, com estrutura tridimensional e amorfa, altamente ramificada e sintetizada a partir de três precursores, o álcool coniferílico, o álcool sinapílico e o álcool p-cumarílico (OGATA, 2013).

Os constituintes estruturais da parede celular dos vegetais podem ser degradados através da ação das enzimas. A adição de enzimas pectinolíticas nos purês de frutas, legumes e hortaliças resulta na degradação da pectina e outros componentes de alto peso molecular, diminuindo a viscosidade e aumentando o rendimento dos sucos, ocasionando uma aparência cristalina no produto final e reduzindo em até 50% o tempo de filtração (UENOJO; PASTORE, 2007).

3.5 ENZIMAS

Enzimas são proteínas capazes de promover e acelerar reações químicas, que regulam grande número de processos biológicos. Presentes em microrganismos, animais e vegetais, elas são usadas direta ou indiretamente pela humanidade há milhares de anos, mas sua importância só foi reconhecida em meados do século 19, quando cientistas descobriram como atuam. A partir de então, e, sobretudo no século 20, aumentou rapidamente o conhecimento sobre tais substâncias, e foram determinados os mecanismos de ação e as estruturas de milhares delas. Essa maior compreensão possibilitou o emprego dessas proteínas especiais em processos industriais de diferentes áreas: médica, alimentícia, têxtil, química, de papel e celulose e muitas outras (SCHMIDELL *et al.*, 2001).

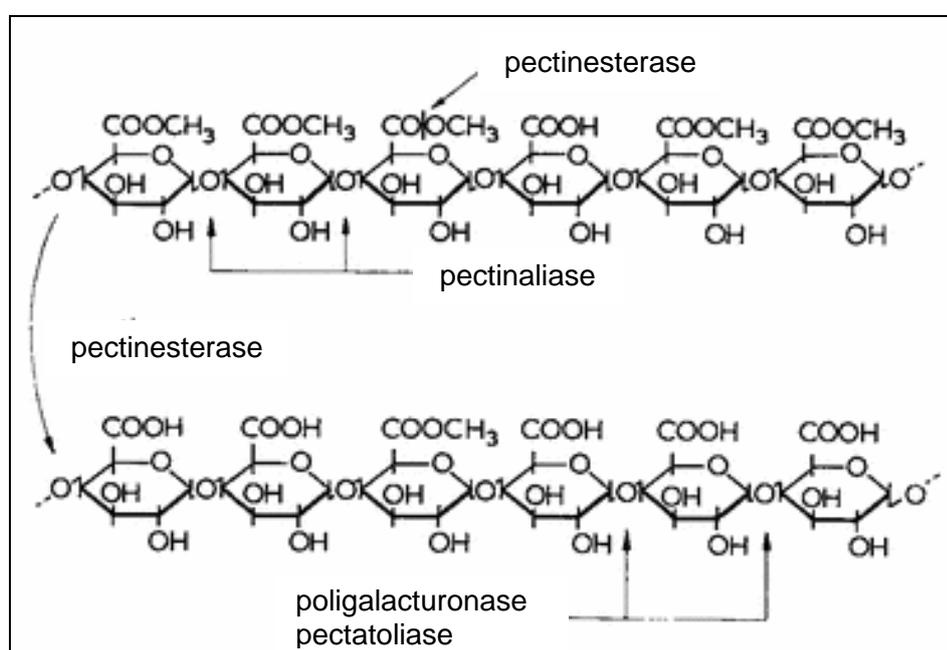
A legislação brasileira permite o uso de enzimas e preparações enzimáticas na produção de alimentos destinados ao consumo humano como definido na Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) N° 54, 07 de outubro de 2014 (ANVISA, 2015): “o emprego de enzimas ou preparações enzimáticas na fabricação de um alimento deve ser tecnologicamente justificável e seguro à saúde”.

As preparações de enzimas são biocatalisadores utilizados em uma variedade de processos industriais dentro da fabricação de alimentos. Como descrito no manual da Novozymes (2015), os produtos estão em conformidade com as especificações de pureza recomendados para enzimas de grau alimentício dadas pelo Comitê de Peritos em Aditivos Alimentares (JECFA) da FAO/OMS e do Código dos Produtos Químicos Alimentícios (FCC).

As pectinases formam um grupo de enzimas que degradam substâncias pectínicas, hidrolisando ligações glicosídicas ao longo da cadeia carbônica (UENOJO; PASTORE, 2007). Essas enzimas são amplamente utilizadas em diversos processos industriais, principalmente na indústria de sucos e vinhos, alimentos, papel e tecidos (SANTI; BERGER; SILVA, 2014). No setor alimentício, podem influir na composição, processamento, deterioração e conservação dos alimentos (CARVALHO, 2007). As enzimas pectinolíticas são enzimas que catalizam a degradação das moléculas constituídas por unidades de ácidos galacturônicos (DA SILVA *et al.*, 1997). A classificação destas enzimas é baseada no modo de ataque à cadeia de ácido galacturônico dos polímeros pectínicos, sendo descritos três tipos de enzimas: as

desesterificantes (pectinesterases), as despolimerizantes (hidrolases e liases) e as protopectinases. A classificação ainda pode ser baseada na preferência pelo substrato (pectina ou pectato) e na região em que atuam na molécula, podendo, neste caso, atuar de forma randômica (atividade endo) ou a partir da extremidade não redutora da molécula (atividade exo) (MARTINS, 2006; KASHYAP *et al.*, 2001). Os pontos de ataque das enzimas pécnicas na molécula de pectina estão representados na Figura 3.

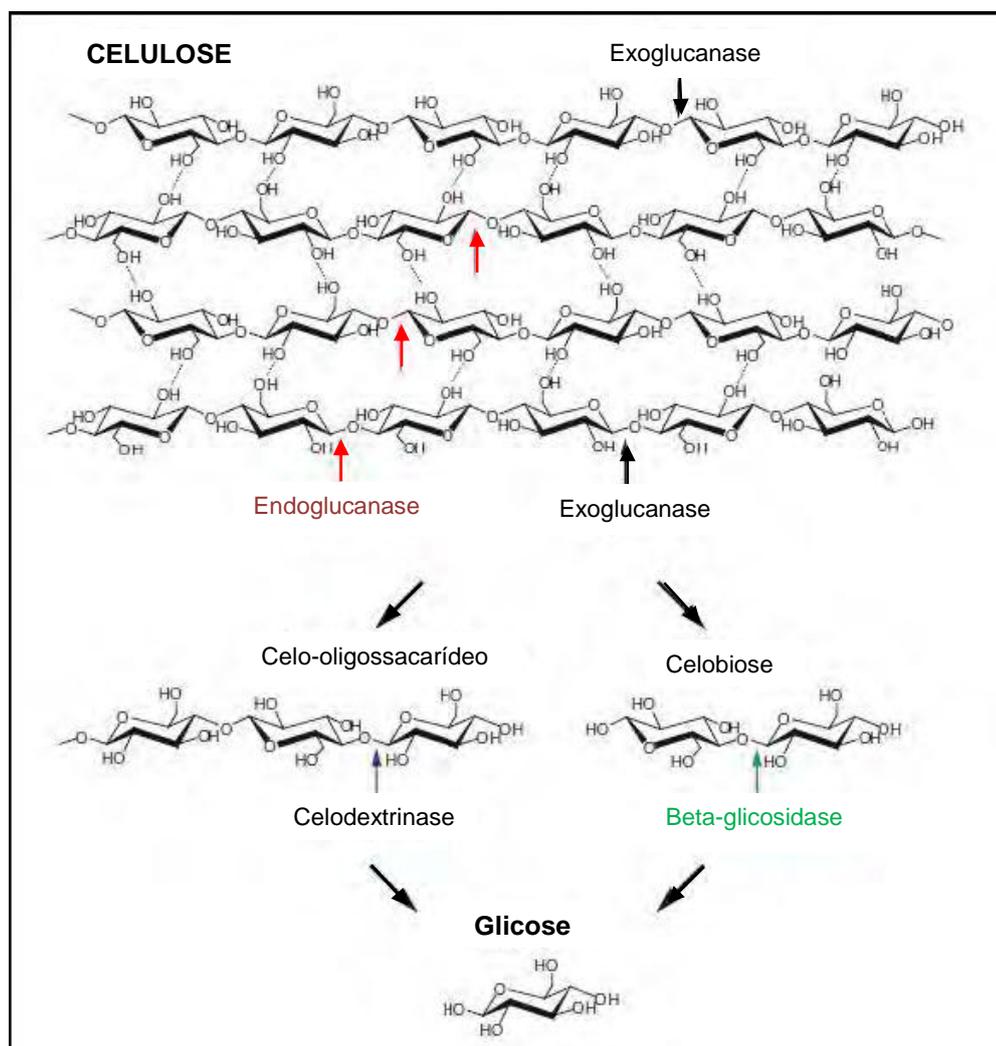
Figura 3 - Pontos de ataque das pectinases na molécula de pectina



Fonte: Rombouts e Pilnik (1980).

A celulase refere-se a uma classe de enzimas catalisadoras da hidrólise da celulose em monômeros de glicose (MAYRINK, 2010). As enzimas envolvidas na hidrólise da celulose correspondem ao complexo enzimático celulolítico que é constituído por enzimas com diferentes especificidades para hidrolisar ligações glicosídicas (Figura 4). As três principais celulases são: endoglucanases (EC 3.2.1.4), exoglucanases (EC 3.2.1.9.1) e β-glucosidases (EC 3.2.1.2.1) que atuam de forma sinérgica para degradar celulose à glicose (ZANCHETTA, 2012).

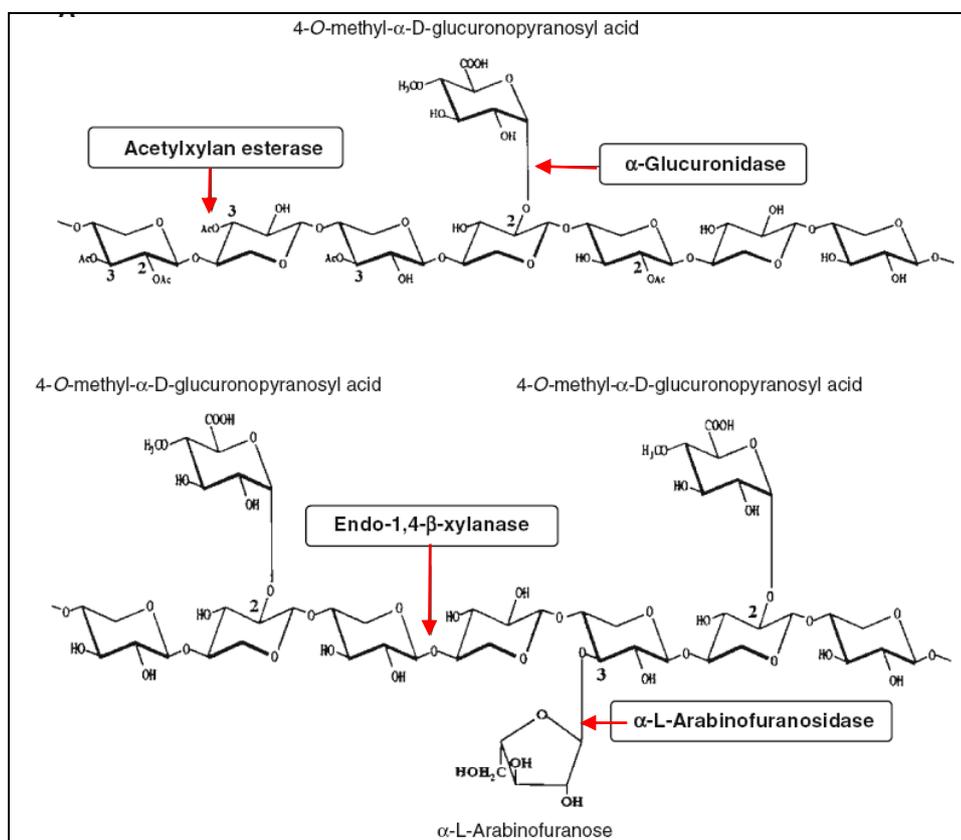
Figura 4 - Representação esquemática de um sistema celulolítico



Fonte: Yeoman *et al.*, 2010

As xilanases são as principais enzimas do grupo das hemicelulases para hidrólise da xilana, seu principal polímero. Devido a sua heterogeneidade e complexidade, a hidrólise completa das xilanas requer uma grande variedade de enzimas que agem em conjunto: endo- β -1,4-xylanases, β -1,4-xylosidases, exoxylanases, α -L-arabinofuranosidases e α -D-glucuronidases (Figura 5). Cada uma dessas enzimas hidroliza um tipo de xilana correspondente (POLIZELI *et al.*, 2005).

Figura 5 - Ação de diferentes tipos de xilanases hidrolisando tipos específicos de xilana, onde as setas indicam os locais de quebra.



Fonte: Polizeli *et al.*, 2005.

O mercado global de enzimas movimentará US\$3,74 bilhões até 2015. O resultado virá da soma de suas vendas para indústria de alimentação animal e outros segmentos. Para o setor de alimentação, as expectativas em torno das enzimas são excelentes. O mercado de alimentação, em geral, é um dos maiores usuários das enzimas. Mas, atualmente, sabe-se que mais de 500 tipos de enzimas garantem 50 aplicações biotecnológicas para diversos segmentos econômicos. No Brasil, uma das líderes do setor informa que atende diversos perfis de clientes, com produtos assim distribuídos: 41% para mercado de detergentes, 26% de alimentos, 8% de rações e 25% de outros setores como, por exemplo, o têxtil. Presentes em microrganismos, animais e vegetais, as enzimas são usadas há milhares de anos pelo homem. Mas sua importância só foi reconhecida em meados do século 19, quando cientistas descobriram seus mecanismos de atuação. A partir do século 20, cresceu rapidamente o conhecimento e uso delas (CBNA, 2015).

3.6 MACERAÇÃO ENZIMÁTICA

De acordo com Kashyap *et al.* (2001), enzimas exógenas são usadas para aumentar a concentração do purê de manga ou para produzir suco claro e concentrado. Pectinases, hemicelulases e celulases possuem atividades importantes usadas para degradar a polpa da manga. Tratamento enzimático da massa de manga produz um rendimento de cerca de 80% do suco de manga presente na fruta. O mesmo autor acrescenta ainda que, para a banana, o tratamento enzimático da polpa gera uma viscosidade reduzida, alto rendimento e concentração do suco, pois ela é viscosa e polposa em demasia para render bebidas com facilidade. A polpa almejada é então macerada usando-se enzimas pécticas, prensada, e o suco resultante é clarificado ou centrifugado antes da concentração. Segundo Barros (2002), a turbidez nos sucos é devido à presença de substâncias em suspensão, tais como lipídios, amido, celulose, taninos e principalmente pectinas.

De acordo com Cardoso *et al.* (1998), a adição de invertases em purê de banana, aumenta a doçura e diminui a viscosidade, melhorando a qualidade do suco.

Segundo Oliveira (2006), a utilização de complexos enzimáticos, constituídos por celulases e pectinases, na extração de suco permite, além de modificar características físico-químicas dos produtos, minimizar a geração de resíduos.

As substâncias pécticas representam cerca de 0,5 a 4% do peso total das frutas e são responsáveis pela consistência, turbidez e aparência dos sucos obtidos. Quando a fruta é moída, a célula se rompe liberando a fase aquosa. Uma fração da pectina, chamada solúvel, distribui-se nessa fase aquosa (suco) e a outra, chamada insolúvel, permanece ligada à parede celular, compondo a polpa. Essa última fração dificulta a extração do suco por prensagem ou por outros métodos mecânicos. Com adição de pectinases à polpa, a estrutura do gel entra em colapso em função da degradação das moléculas de pectina e o suco é mais facilmente obtido, aumentando o seu rendimento. A pectina solúvel, por sua vez, promove turbidez da fase aquosa (suco) e formação de gel, que pode precipitar levando à separação de fases no suco, além da perda de cor (DA SILVA *et al.*, 1997).

Esmagamento mecânico de frutas ricas em pectina produz um suco de fruta de elevada viscosidade, que permanece ligado à celulose sob a forma de uma massa em volta em gel. É difícil extrair esse suco por prensagem ou usando outros métodos mecânicos. Com a adição de pectinases, a viscosidade do suco de fruta diminui, a processabilidade da polpa aumenta, a estrutura da gelatina desintegra-se e o suco da fruta torna-se de fácil obtenção e com rendimentos mais elevados (KASHIAP *et al.*, 2001).

Enzimas pectinolíticas degradam substâncias pécticas de vários tipos. São utilizadas para a indústria de processamento de frutas para aumentar a produtividade, melhorar a liquefação, clarificação e filtração de sucos, maceração e extração de tecidos vegetais. Maceração enzimática leva a uma extensa degradação da lamela média e pectina da parede celular por atividades de poligalacturonase, pectinametilsterase e pectinase. O efeito sinérgico da combinação de pectinases e celulases é a parte crucial do processo de tratamento enzimático da polpa para uma liquefação quase completa de frutas e produtos hortícolas despulpados. A pasta resultante tem uma viscosidade mais baixa e a quantidade de resíduos de bagaço é reduzido (DEMIR *et al.*, 2001). A adição de pectinase aumenta significativamente a cor, acidez titulável e açúcares totais nos sucos extraídos enzimaticamente (JOSHI; PARMAR; RANA, 2011).

A utilização de pectinases associadas a outras enzimas, como celulases e hemicelulases, aumenta ainda mais o rendimento da extração de suco e melhora o processamento de frutas, legumes e hortaliças, sem causar grande impacto nos custos de produção. Essas enzimas são utilizadas para macerar a polpa até a liquefação parcial ou total da fruta/hortaliça, diminuindo o tempo de processamento e melhorando a extração dos componentes, como, por exemplo, cor. Mesmo após a extração dos sucos, as pectinases são também adicionadas para clarificação e diminuição de viscosidade, facilitando, posteriormente, a filtração e a concentração (SANTI; BERGER; SILVA, 2014)

Através de tratamento enzimático apropriado, purês de diferentes propriedades reológicas podem ser obtidos, facilitando o seu processamento e estendendo significativamente as utilizações desse sumo de frutos em produtos alimentares. O tratamento enzimático com uma preparação comercial que contém

níveis elevados de atividades de pectinase, celulase e xilanase parecem ser eficazes em paredes celulares isoladas insolúveis (BRITO *et al*, 2008).

A maceração é um processo através do qual organizado o tecido se transforma em uma suspensão de células intactas, resultando em produtos polposos utilizados como matéria-prima para sucos polposos e néctar, como alimentos para bebês e um ingrediente para produtos lácteos, como pudins e iogurtes. A degradação enzimática da pectina, após um tratamento mecânico leve geralmente melhora as propriedades do produto, se o processo é realizado para deixar tantas células quanto possível inteiras, e com o objetivo de tratamento enzimático é a transformação de tecido numa suspensão de células intactas. A degradação da pectina deverá afetar apenas a lamela média dos tecidos vegetais. Maceração enzimática conduz à degradação de pectina limitada, evitando assim fugas de amido para fora das células e evita o defeito de qualidade do produto reconstituído. O processo é frequentemente utilizado para as cenouras e secagem de purê de batata instantâneo (KASHIAP, 2001).

A combinação de pectinases (pectinaliase, pectinametilsterase, endo e exo-poligalacturonases, pectina acetilsterase, ramnogalacturonase, endo- e exo-arabinases), celulases (endoglucanases, exoglucanases e cellobiases) e hemicelulases (endo- e exo-xilanases, galactanases, xiloglucanases e mananases) - coletivamente chamadas enzimas de maceração - são utilizadas na extração e clarificação de sucos de frutas, legumes e hortaliças. Além disso, α -amilase e amiloglicosidase são utilizadas para processar frutos que contêm amido, especialmente maçãs colhidas durante as fases iniciais, a fim de impedir a formação de turvação (BHAT, 2000).

A produção de sucos de frutas e produtos hortícolas requer métodos para extração, clarificação e estabilização. Com as pesquisas sobre pectinases industrialmente adequadas, celulases e hemicelulases de microrganismos de grau alimentício (*Aspergillus niger* e *Trichoderma* sp.), juntamente com o aumento do conhecimento sobre os componentes de frutas, ajudaram a superar muitas dificuldades encontradas quando as indústrias de frutas começaram a produzir suco, como rendimentos baixos, e em filtrar o suco para uma clareza aceitável (BHAT, 2000).

Moura (2009) estudou o efeito do tratamento enzimático na polpa de cajá utilizada na preparação de néctar. Para maceração da polpa de cajá, foi utilizada a preparação Viscozyme L, que juntamente com o tempo de maceração favoreceu a redução da consistência dessa polpa pela ação das enzimas exógenas contidas na preparação utilizada.

Correia (2010) utilizou preparações enzimáticas comerciais com atividades pectinolíticas, celulolíticas e hemicelulolítica na maceração da polpa de noni para redução da consistência. Viscozyme L e Ultrazym AFP-L mostraram-se eficientes na redução da consistência, teor de polpa e aumento dos grupos redutores totais da polpa de noni. O autor mostrou que a concentração da enzima e a temperatura de incubação são fatores relevantes na redução do teor de polpa e no aumento dos grupos redutores, respectivamente. Já o tempo não exerceu nenhuma influência sobre essas variáveis.

Aquino (2012) avaliou o processo de maceração enzimática da polpa de bacuri para obtenção de um néctar adequado à comercialização, bem como estudou a ampliação da escala de produção desse néctar. A maceração apresentou-se como uma solução vantajosa, pois além das enzimas serem naturais, não tóxicas e com ação direcionada, são também capazes de alterar as características da matéria-prima, reduzindo a consistência e promovendo melhorias na polpa de bacuri.

Rodrigues (2013) avaliou o efeito da maceração enzimática no processamento da polpa de banana Prata Anã para o desenvolvimento de um néctar, utilizando as preparações Pectinex XXL e Celluclast 1,5L. Concluiu-se que houve aumento na concentração dos grupos redutores totais e dos sólidos solúveis, redução na viscosidade da polpa (aumento do fluxo de polpa) e na separação de líquido da polpa (sinérese) indicando que as enzimas foram capazes de atuar sobre os polissacarídeos e fibras longas, além de solubilizar alguns dos constituintes da parede celular da polpa de banana.

O uso de enzimas tem-se revelado muito promissor em termos de rendimento de suco, proporcionando uma melhor utilização da matéria-prima, aumentando a eficiência nas operações unitárias do processo produtivo, no consumo energético e, em termos ambientais, reduzindo os desperdícios. Verificou-se um aumento do rendimento da extração do suco de cenoura pela adição de enzimas, notadamente com a utilização da pectinase. Essa enzima permitiu um aumento de rendimento de 20% relativamente à amostra padrão, sem enzimas.

Porém, a escolha dessas enzimas requer uma elevada precisão, uma vez que a atividade enzimática pode também ser responsável por alterações indesejáveis na cor, sabor, entre outros (FARIÑA *et al.*, 2007).

Pectinases, hemicelulases e celulases têm atividades importantes utilizadas para degradar a polpa de manga. Tratamento enzimático de purê de manga proporcionou um rendimento de cerca de 80% do total de suco de manga presente no fruto (KASHIAP, 2001). Nogueira *et al* (2005) ressaltam que quanto mais esmagada ou triturada for a fruta, maior o rendimento em volume e mais rápido e eficiente torna-se o tratamento enzimático.

3.7 AVALIAÇÃO DA CONSISTÊNCIA

De acordo com Bourne (1982), a consistência é definida como todas as sensações resultantes da estimulação dos receptores mecânicos e táteis, especialmente na região da boca, e variando com a textura do produto.

A percepção dos atributos de textura na boca baseia-se nas sensações evocadas quando um alimento é mordido, mastigado ou engolido. Os órgãos sensoriais envolvidos são terminações nervosas do nervo trigêmeo localizadas na estrutura superficial da língua, palato, ao redor dos dentes e nos músculos e tendões que controlam os movimentos das mandíbulas (LAWLESS; HEYMANN, 1998).

Segundo Meilgaard; Civile; Carr (2006), por convenção, esses atributos são assim denominados:

- Viscosidade – para líquidos newtonianos homogêneos;
- Consistência – para fluídos heterogêneos ou não-newtonianos e semissólidos;
- Textura – para sólidos e alguns semissólidos.

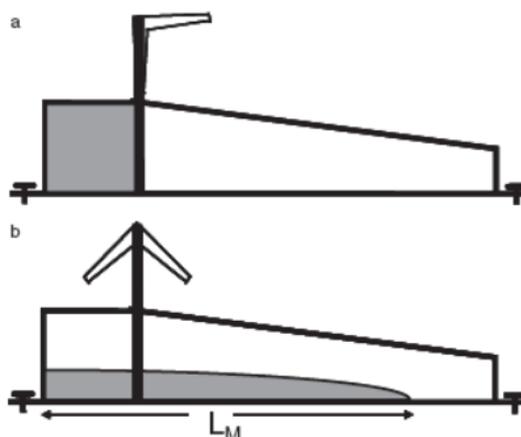
“Viscosidade” (de água, óleo, cerveja) refere-se à taxa de fluxo de um líquido sob uma força, tal como a gravidade e pode ser medida com exatidão pelo viscosímetro. “Consistência” (de purês, molhos, xaropes, geleias), em princípio deve ser medida por análise sensorial, mas na prática utiliza-se um consistômetro. A “Textura” é muito mais complexa, e depende de equipamentos mais sofisticados

para sua medição (texturômetro). É definida como a manifestação sensorial das características estruturais do alimento, as quais são classificadas em: *características mecânicas*, relacionadas à reação do alimento à força (dureza, coesividade, elasticidade, adesividade); *características geométricas*: relacionadas com o tamanho, formato e orientação das partículas no alimento (fibroso, arenoso, granuloso) e *outras características*, relacionadas à presença de umidade ou gordura, por ex. (MEILGAARD; CIVILE; CARR, 2006; PENNA; OLIVEIRA; BARUFFALDI, 1997).

O fluxo em um consistômetro de Bostwick é tratado como uma corrente de gravidade. As correntes de gravidade ocorrem quando um fluido flui principalmente horizontalmente, devido a forças gravitacionais. A força gravitacional atuando sobre o fluido num consistômetro de Bostwick é oposta por forças viscosas, o que limita a distância a frente que o fluido percorre durante o tempo de medição (MCCARTHY; MCCARTHY, 2009).

O consistômetro de Bostwick é um instrumento simples, durável e que é amplamente utilizado na indústria de alimentos para avaliar a consistência de produtos viscosos e fluidos. Um diagrama esquemático de um consistômetro de Bostwick é mostrado na Figura 6. O produto alimentar é carregado para dentro do compartimento, a porta de mola de um lado do compartimento é liberado, e o produto flui para baixo no canal. A distância percorrida pela extremidade principal do produto é observado em 30 segundos (MILCZAREK; MCCARTHY, 2006).

Figura 6 - Esquema do consistômetro de Bostwick, com (a) o fluido carregado e (b) LM liberado e extensão medida de fluxo.



Fonte: MILCZAREK; MCCARTHY, 2006.

3.8 AVALIAÇÃO SENSORIAL

As características de viscosidade e consistência de um produto podem determinar sua aceitação ou não por parte do consumidor. Elas também são importantes durante o processamento, até mesmo na determinação de seus parâmetros. A análise sensorial é uma medida integrada e multidimensional com 3 vantagens importantes: identifica a presença ou ausência de diferenças perceptíveis, qualifica as características sensoriais importantes de forma rápida e denota problemas particulares que não podem ser detectados por outros procedimentos analíticos (PENNA; OLIVEIRA; BARUFFALDI, 1997).

Análise Sensorial é uma disciplina usada para provocar, medir, analisar e interpretar as reações produzidas pelas características dos alimentos e materiais, como elas são percebidas pelos órgãos da visão, olfato, gosto, tato e audição (Stone; Sidel, 2004).

De acordo com Dutcosky (1996), a avaliação sensorial fornece suporte técnico para pesquisa, industrialização, controle de qualidade e marketing. Vem sendo aplicada no desenvolvimento e melhoramento de produtos e processos, na determinação de normas e estabelecimento de critérios e referências de qualidade, e em estudos de armazenamento (TEIXEIRA, 2009).

A análise sensorial deixou de ser uma atividade secundária e empírica e enquadrou-se na categoria de disciplina científica, capaz de gerar informações precisas e reprodutíveis. Sobre essas informações recaem importantes decisões como seleção da matéria-prima, padronização de métodos e otimização de formulações, para desenvolvimento de produtos, tornando-se assim uma ferramenta básica para aplicação na indústria de alimentos (MEHINAGIC *et al.*, 2003).

Ao se desenvolver um novo produto, é imprescindível aperfeiçoar parâmetros, como forma, cor, aparência, odor, sabor, textura, consistência e a interação dos diferentes componentes, com o objetivo final de alcançar um equilíbrio e, conseqüentemente, boa qualidade e aceitabilidade do produto (ARAUJO *et al.*, 2012). Para a melhoria dos sistemas de processamento, o entendimento das reações físicas e químicas que ocorrem durante a transformação da matéria prima em produtos derivados, e sua relação com as características sensoriais é de extrema

importância. Assim, a interpretação das análises instrumentais só têm significado quando elas estão correlacionadas às características sensoriais (SANDI *et al.*, 2003).

No entanto, essa avaliação psico-física do alimento pode ser caracterizada pela imprecisão, inexatidão e repetibilidade incerta. Portanto, é importante encontrar métodos objetivos que possam prever a percepção sensorial do produto (BENLLOCH-TINOCO *et al.*, 2012).

Para avaliar diferenças entre amostras, realizam-se métodos discriminativos, onde os julgadores selecionados por sua acuidade sensorial atuam como instrumentos para detectar pequenas diferenças. Por sua vez, os métodos descritivos quantificam as intensidades percebidas das características sensoriais de um produto. Em geral, provadores treinados identificam os atributos sensoriais importantes para descrever as amostras (descritores) e avaliam a intensidade de cada descritor, gerando um perfil sensorial (GARRUTI *et al.*, 2012).

A avaliação da aceitabilidade das características específicas de um produto é realizada por meio de métodos afetivos, que determinam o grau com que os consumidores gostam ou desgostam de um produto (MEILGAARD; CIVILLE; CARR, 2006). Seleciona-se uma amostra aleatória que atenda aos parâmetros a serem estimados e a variabilidade das variáveis inerentes à população, pré-fixados erro e nível de significância das estimativas. É necessário, por vezes, um grande contingente de pessoas que manifestarão suas preferências. Em provas com consumidores não se emprega avaliadores selecionados e treinados, eles devem ser os usuários do produto ou, pelo menos, usuários em potencial (LANZILLOTTI; LANZILLOTTI, 1999).

3.9 COMPOSTOS VOLÁTEIS

O conhecimento científico dos compostos químicos responsáveis pelo sabor característico das frutas tropicais ou subtropicais justifica-se pela importância que desempenham na qualidade dos frutos e seus produtos (NARAIN *et al.*, 2004).

Os compostos voláteis do aroma são, em sua maioria, substâncias termolábeis, sujeitas a rearranjos, civilizações, oxidações, quando submetidas a qualquer aumento de temperatura. Se o estudo dos compostos voláteis

responsáveis pelo aroma e sabor das frutas tropicais é útil na caracterização e classificação da sua origem, sua importância é ainda maior quando perdas ou modificações do aroma ocorrem devido ao processamento industrial, resultando em produtos que não mais apresentam o sabor original. O fato dos componentes voláteis possuírem variada estrutura química, estarem presentes em quantidades diminutas e serem termolábeis torna a pesquisa de sabor muito complexa (PINTO, 2006).

Pires *et al.* (2013) relata que de acordo com Berger *et al.* (2007) mais de 30 compostos voláteis foram identificados em extratos de abóbora, sendo as classes predominantes os alcoóis alifáticos e compostos carbonílicos, derivados do furano. Os compostos voláteis de abóbora cozida utilizando-se da técnica de arraste a vapor, foram avaliados por Masahiro e Katsumi (2001) que identificaram 103 compostos, dentre os quais, os alcoóis (Z)-3-nonenol e (Z,E)-3,6-nonadienol foram os predominantes.

As principais etapas da pesquisa do sabor são: isolamento dos compostos voláteis, separação e identificação dos compostos voláteis por cromatografia gasosa e espectrometria de massas, determinação da contribuição de cada componente para a formação do aroma característico por técnicas de olfatométrica, e correlação entre a análise sensorial e a composição química dos compostos voláteis (THOMAZINI; FRANCO, 2000).

A concentração dos compostos voláteis geralmente é baixa e pode ser afetada por uma série de fatores, incluindo os agrônômicos (variedade, condições climáticas e amadurecimento) (VENDRAMINI; TRUGO, 2000) e tecnológicos (colheita, tratamento pós-colheita, armazenamento e condições de processamento) (BOTONDI *et al.*, 2003).

Compostos voláteis e semi-voláteis estão entre os produtos finais comuns de muitos processos induzidos por reações químicas, e podem servir de testemunho para o que acontece, não só na fração volátil, mas também nas outras frações. Conseqüentemente, analisar a fração volátil pode ser considerado como um bom ponto de partida para a comparação de impactos do processamento (KEBEDE *et al.*, 2014).

A análise dos voláteis de um alimento pode ser "total" (de todos os componentes voláteis do alimento) ou somente dos componentes voláteis presentes na fase gasosa em equilíbrio sobre o produto, chamada de análise do *headspace*, a qual representa mais fielmente o que é percebido pelo olfato e pode ser realizada qualitativa, quantitativa e sensorialmente (FRANCO; JANZANTTI, 2004).

As técnicas analíticas mais frequentes aplicadas na extração e concentração de compostos voláteis aromáticos de plantas medicinais e alimentos são aqueles com base em análise de *headspace* (HS). Entre os métodos de *headspace*, a microextração em fase sólida (SPME) tem se mostrado sensível, reprodutível e de custo eficiente, tornando-se uma ferramenta poderosa quando combinada com a análise de cromatografia gasosa e espectrometria de massa (GC-MS) (DE PINHO, 2009).

Essa técnica (SPME) envolve a adsorção de analitos para uma fibra de sílica fundida revestido com as fases estacionárias adequadas e sua dessorção subsequente imediatamente antes da análise cromatográfica. Os analitos-alvo podem ser adsorvidos sobre a fibra por imersão na amostra ou expondo-a ao espaço vazio acima da amostra em um recipiente fechado (HS-SPME), em que as interferências da matriz são reduzidas drasticamente (RIU-AUMATELL *et al.*, 2004).

A espectrometria de massas associada à cromatografia gasosa é uma técnica valiosa para a análise dos compostos voláteis, visto que, propicia rapidez e praticidade na análise da constituição química autêntica do aroma da fruta e tem sido amplamente utilizada em vegetais (PIRES *et al.*, 2013).

3.10 COMPOSTOS FUNCIONAIS

3.10.1 Sucos funcionais

Doenças relacionadas com o estilo de vida que são pertinentes para a mudança de hábitos alimentares têm aumentado. Como resultado, vários sucos de vegetais, como alimento funcional, ganharam popularidade para reduzir a incidência

de doenças. Nenhuma definição clara foi desenvolvida ainda para produto funcional, mas as indústrias de alimentos têm elevadas expectativas em relação a produtos alimentares que atendam a demanda dos consumidores por um estilo de vida saudável. Esses alimentos não são destinados apenas para satisfazer a fome e fornecer aos seres humanos os nutrientes necessários, mas também para prevenir doenças relacionadas com a nutrição e aumentar o bem-estar físico e mental dos consumidores (DOGAN *et al.*, 2011; MENRAD, 2003). Além disso, estudos epidemiológicos têm afirmado que o consumo de frutas e vegetais é associado com a prevenção de doenças crônicas, como câncer e doenças cardiovasculares (CILLA *et al.*, 2009; CULLEN *et al.*, 2004).

Baixos níveis plasmáticos de micronutrientes com propriedades antioxidantes, encontrados frequentemente em frutas e vegetais, estão associados a um maior risco para essas doenças. Além disso, estima-se que 30 - 40% de todos os cânceres podem ser evitados através de modificação da dieta e um aumento da ingestão de frutas e legumes (SUNA *et al.*, 2013).

Os sucos funcionais, desintoxicantes (detox), energizantes e antioxidantes, nada mais são do que misturas de frutas, verduras e hortaliças. Ao contrário de serem taxados como sucos de sabor ruim devido ao nome dos componentes, são sucos altamente saborosos e com potencial nutricional super acentuado. As propriedades desses sucos variam, apresentando funções como limpeza do organismo, equilibrador de pH, energizante, benéfico para pele, diurético, antioxidante, repositores de nutrientes, aceleradores de metabolismo, preventivo de doenças, benéfico para órgãos-alvo, regulador do trânsito intestinal e combatentes do inchaço. Entre as várias matérias-primas utilizadas em suas composições estão misturas contendo abóbora, agrião, beterraba, sementes germinadas de linhaça e girassol, couve, hortelã, laranja, limão, mel, maçã, gengibre, entre outras (MEDEIROS, 2015).

Ravi *et al.* (2010) demonstraram que a adição de suco de abóbora ao suco de laranja proporcionou melhora da qualidade nutricional da bebida em termos de vitaminas e minerais, resultando no desenvolvimento de um novo produto, economicamente viável e enriquecido nutricionalmente. A análise sensorial mostrou que a adição de suco de abóbora d'água não afetou o sabor da bebida e a amostra com 75:25 (v/v) laranja:abóbora foi a mais aceita.

Preparações de abóboras estão se tornando mais amplamente disponíveis no mundo todo, especialmente na China, sendo muito utilizadas por praticantes de saúde natural para o tratamento de diabetes. Os componentes dessa planta podem reduzir o açúcar no sangue, aumentando o nível de insulina e diminuindo os aminoácidos de cadeia ramificada. Num ensaio clínico, o consumo de suco de abóbora adicionado à dieta produziu uma redução na glicemia em jejum em indivíduos diabéticos. Mais importante ainda, é um produto barato e facilmente disponível em países em desenvolvimento. A literatura aponta ainda para a utilidade potencial da abóbora no tratamento do câncer. Suco de abóbora apresentou atividade antimutagênica, com notável estabilidade ao calor, enquanto que quando sucos de outras frutas e legumes, como maçãs, kiwis, ananás e beterraba foram aquecidos, houve uma redução considerável das potências antimutagênicas (CAILI *et al.*, 2006).

O processamento pode resultar em reduções dramáticas em compostos antioxidantes, dependendo do binômio tempo/temperatura utilizado, e os níveis de antioxidantes podem continuar a diminuir durante o armazenamento. No entanto, algum grau de calor é desejável para a inativação de enzimas oxidantes, como branqueamento ou pasteurização leve, podendo resultar em níveis mais elevados de atividade antioxidante no produto.

A abóbora pode ser consumida como tal, sendo uma rica fonte de carotenóides, mas por causa da sua cor de laranja intensa, pode também ser utilizada para a coloração de alimentos, sem contribuir com quaisquer sabores indesejáveis. Suco de abóbora pode colorir produtos de queijo, bem como proporcionar uma tonalidade amarelo cremoso em bebidas lácteas. A vantagem de usar esses corantes é que eles agregam valor, contribuindo para uma imagem natural de um produto alimentar, como eles são listados em painéis de ingredientes como, por exemplo, cenoura e suco de beterraba (MUTEAN, 2005).

O desenvolvimento de padrões de vida e novas tendências nutricionais causam um aumento do consumo de alimentos processados. Novos conhecimentos surgem sobre vitaminas, minerais, fitoquímicos e seus valores diários recomendados necessários pelo corpo humano. Os alimentos funcionais são definidos como alimentos que contenham componentes de promoção da saúde e que podem

melhorar a saúde dos consumidores. Na categoria de alimentos funcionais, sucos de frutas e vegetais são sugeridos como um meio ideal para ingredientes funcionais de saúde, porque eles inerentemente contêm nutrientes benéficos (LUCKOW; DELAHUNTY, 2004).

3.10.2 Carotenoides

Os carotenoides de frutos de abóbora foram associados à prevenção do câncer da próstata. Porém, há ainda várias controvérsias sobre a relação do uso de sucos de frutas de abóbora e o câncer; por exemplo, o suco de abóbora cozida suprimiu significativamente a incidência de células aberrantes, enquanto o suco abóbora fresca reforça-a (YADAV *et al*, 2010).

Arima e Rodrigez-Amaya (1990) identificaram 19 tipos de carotenoides na polpa de abóbora (*Cucurbita moschata*) variedade "Baianinha". Beta-caroteno foi o carotenóide principal, contribuindo com cerca de 74% do teor de carotenóides totais média de 317,8 µg/g.

Em estudo feito por Rodriguez-Amaya *et al.* (2008), foram analisados o conteúdo de carotenóides em alimentos brasileiros incluindo a abóbora (*Cucurbita moschata*) que foi quantificada quanto ao teor de α -caroteno (27 ± 5 µg/g), β -caroteno (67 ± 9 µg/g) e luteína (17 ± 4 µg/g).

Os carotenoides são pigmentos que estão naturalmente presentes nos alimentos e que os animais não conseguem biossintetizar, devendo ser ingeridos através dos alimentos. São conhecidos mais de 650 carotenoides, e um dos mais conhecidos é o β -caroteno, precursor da vitamina A (MÉNDEZ; MOSQUERA, 2007). São os componentes responsáveis pela coloração das abóboras.

A degradação de carotenóides é considerada chave na formação de muitos compostos de aroma em plantas e em produtos vegetais. Os carotenóides servem como substrato, mas a natureza dos mecanismos bioquímicos (enzimáticos ou não enzimáticos) mediante degradações oxidativas ainda não está bem elucidada. As reações catalisadas por peroxidases, lipoxigenases e dioxigenases e as reações não enzimáticas têm sido realizadas *in vitro*. A capacidade de algumas enzimas em converter β -caroteno em β -ionona tem sido demonstrada e parcialmente caracterizada (UENOJO; MARÓSTICA JR.; PASTORE, 2007).

Geralmente considera-se que o tratamento térmico de vegetais melhora a biodisponibilidade de carotenoides, uma vez que rompe a estrutura de celulose da célula da planta (VAN HET HOF *et al.*, 2000).

Sánchez-Moreno *et al.* (2006) relataram que o tratamento térmico tem a capacidade de melhorar a biodisponibilidade de carotenoides a partir de vegetais, provavelmente devido à desnaturação da proteína de carotenoides induzida pela temperatura elevada.

Alguns autores encontraram correlações entre o perfil de carotenoides e a cor da polpa da abóbora, como Murkovic *et al.* (2002), que afirmaram que as variedades de abóbora com um alto teor de carotenos têm uma aparência de laranja, e variedades com alto teor de luteína e de baixo teor de caroteno apresentou uma cor amarelo brilhante. Em contraste, no purê de abóbora processada foi difícil estabelecer relações entre a cor do produto e perfil de carotenoides, porque as etapas do processamento, tais como a homogeneização mecânica, tratamento térmico, aumentaram a extratibilidade de carotenóides a partir da matriz vegetal, o que também podem melhorar a sua biodisponibilidade (VAN HET HOF *et al.*, 2000). No entanto, também pode favorecer, em alguns casos, a sua exposição a reações de degradação (CONTADOR *et al.*, 2014)

Existem vários estudos sobre as abóboras que analisam a composição de carotenóides em diferentes espécies e variedades, mostrando altas concentrações desses compostos em abóboras frescas. No entanto, há uma série de variedades e condições de crescimento que não foram ainda investigadas. Além disso, há poucos estudos sobre a composição de carotenoides em produtos industriais derivados de abóboras (PROVESI, 2011).

Consumir suco de abóbora é benéfico, pois é rica em carotenóides. Além de servir como precursores da vitamina A, alguns carotenoides possuem capacidade antioxidante e podem exercer papel na proteção contra a aterosclerose e degeneração macular relacionada à idade (MUTEAN, 2005).

Sob o ponto de vista nutricional, a importância da presença de abóboras na dieta reside no fato de serem consideradas fontes de carotenoides, compostos responsáveis pela sua atrativa coloração e que desempenham importante papel na saúde humana. As propriedades antioxidantes dos carotenóides fundamentam-se na

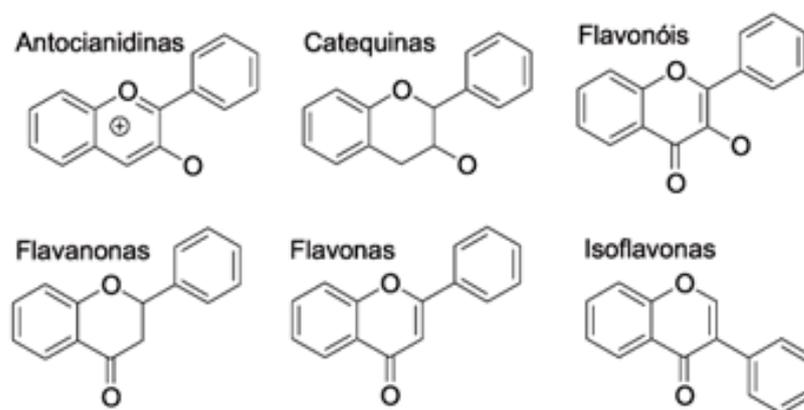
estrutura desses compostos, principalmente no sistema de duplas ligações conjugadas, tornando possível a captação de radicais livres (VERONEZI; JORGE, 2011).

3.10.3 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos estão amplamente distribuídos no reino vegetal. São definidos como substâncias que possuem um anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos, incluindo seus grupos funcionais (MALACRIDA; MOTTA, 2005).

São substâncias amplamente distribuídas na Natureza, mais de 8000 compostos fenólicos já foram detectados em plantas. Esse grande e complexo grupo faz parte dos constituintes de uma variedade de vegetais, frutas e produtos industrializados (SILVA, *et al.* 2010). Há várias classes de compostos fenólicos naturalmente presentes em alimentos. Entre essas, os flavonoides formam o grupo de maior importância, com cerca de 4000 compostos identificados, que ainda podem ser subdivididos em sub-classes, como: antocianidinas, flavonóis, catequinas e isoflavonas (Figura 7). Entre as possíveis ações dos flavonóides no organismo humano destacam-se a inibição da proliferação de células cancerígenas e efeitos antiinflamatórios e antiateroscleróticos. Agem como seqüestrantes de ânions superóxido e outros compostos reativos, formando compostos menos reativos (CAMPOS *et al.*, 2008).

Figura 7 - Estrutura química dos principais tipos de flavonóides



Fonte: MARCO; POPPI; SCARMINIO, 2008.

Estudos epidemiológicos têm demonstrado a associação entre o consumo de alimentos e bebidas ricos em compostos fenólicos e a prevenção de doenças, tais com câncer e doenças coronarianas isquêmicas (DCI) (MALACRIDA; MOTTA, 2005).

A capacidade antioxidante desses compostos é atribuída ao poder redutor do grupo hidroxila aromático, que reduz radicais livres reativos, como o oxigênio “singlet” ou decompõe peróxidos e produz o radical fenoxila, menos reativo (CAMPOS *et al.*, 2008).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAL

4.1.1 Abóbora

A abóbora moranga (*Cucurbita moschata*), também conhecida como abóbora de leite foi obtida no mercado local de Fortaleza/CE e processada no Laboratório de Processos Agroindustriais da Embrapa Agroindústria Tropical.

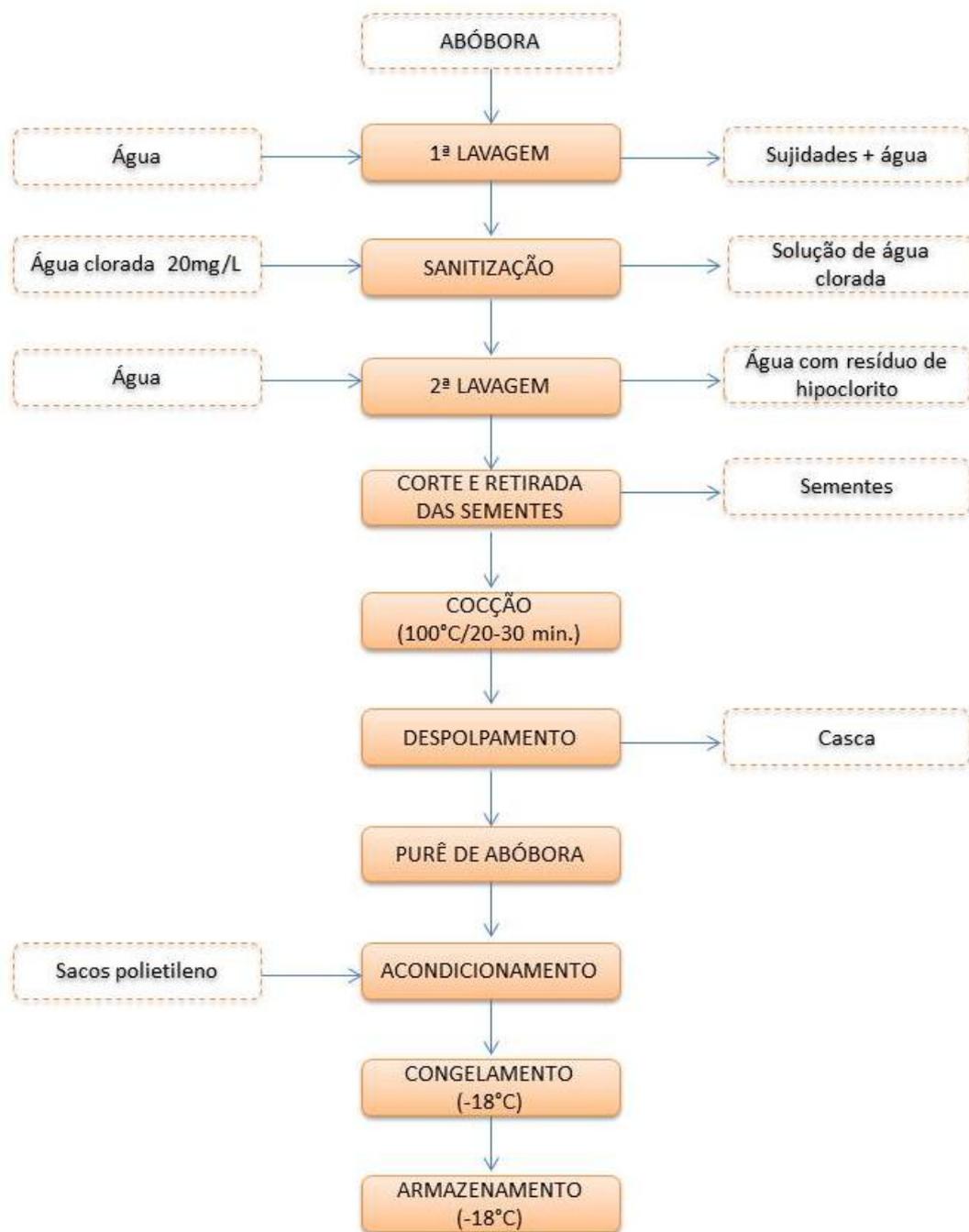
4.1.2 Reagentes e preparações enzimáticas

Os reagentes utilizados para as determinações químicas e físico-químicas foram Tipo Padrão Analítico (P.A.). As preparações enzimáticas comerciais utilizadas foram: Pectinex XXL, Viscozyme L e Celluclast 1,5L, cedidas gentilmente pela Novozymes Brasil.

4.2 OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO PURÊ DE ABÓBORA

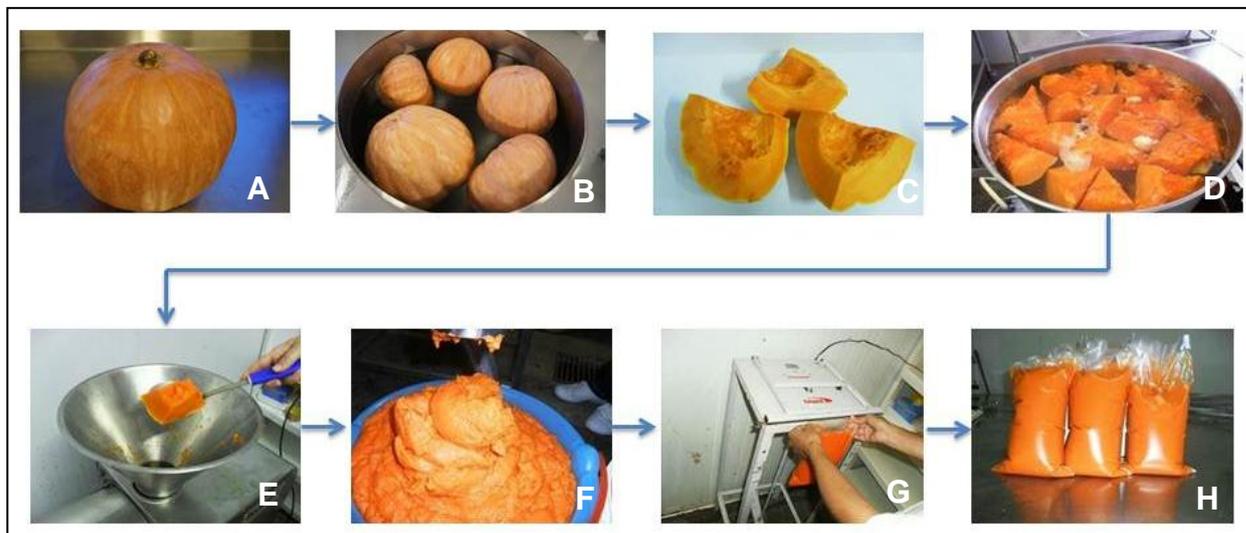
Para a obtenção do purê de abóbora realizou-se processamento conforme mostrado nas Figuras 8 e 9, com etapas de lavagem, corte, retirada das sementes e cocção. Após o cozimento, para separação da casca e obtenção do purê, empregou-se despoldadeira bonina modelo 0.25 df ITAMETAL com tela contendo furos de 1 mm de diâmetro. O purê obtido foi embalado em sacos de polietileno com capacidade para 1 Kg, os quais foram lacrados em uma seladora Sulpack SP-350. O produto foi congelado e armazenado à -18°C.

Figura 8 – Fluxograma do processamento da abóbora para obtenção do purê



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 9 - Etapas de obtenção do purê de abóbora: A) Abóbora in natura; B) Sanitização; C) Corte e retirada das sementes; D) Cocção; E) Despulpamento; F) Purê; G) Acondicionamento; H) Purê pronto para congelar.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Para a caracterização do purê de abóbora foram realizadas as seguintes análises: umidade, atividade de água, pH, sólidos solúveis totais, cinzas, acidez total, extrato etéreo, grupos redutores totais, açúcares totais, amido e pectina, hemicelulose e celulose + lignina. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

4.3 ANÁLISES QUÍMICAS E FÍSICO-QUÍMICAS

4.3.1 Umidade

A determinação do teor de umidade foi feita por método gravimétrico, segundo método 012/IV descrito em IAL (2008). Foram pesadas, aproximadamente, 5 g da amostra em um cadinho previamente tarado. O material foi levado para estufa à temperatura de 90 °C, até peso constante. Os cadinhos foram retirados e colocados em dessecador até peso constante. Relacionou-se a perda de peso para 100 g da amostra integral.

4.3.2 Atividade de água (Aw)

Para determinação da atividade de água (Aw) foi utilizado o Medidor digital de Aw (AQUALAB CX-2), com sensibilidade de 0,001, a 28°C ($\pm 2^\circ\text{C}$). A preparação da amostra e a utilização do aparelho foram realizadas conforme instruções descritas no seu manual de operação.

4.3.3 pH

As medidas de pH foram realizadas por potenciometria em pHmetro digital HANNA, modelo HI2221, calibrado com soluções tampão de pH 7,0 e pH 4,0. Determinou-se o pH por imersão direta dos eletrodos na amostra, conforme IAL 017/IV (2008).

4.3.4 Sólidos solúveis (°Brix)

As determinações de sólidos solúveis foram feitas em refratômetro digital (ATAGO PR-101) com escala de 0 a 45 °Brix, através da leitura direta da amostra. Os resultados foram expressos em °Brix, de acordo com IAL 315/IV (2008).

4.3.5 Cinzas

As cinzas foram determinadas segundo método descrito por IAL 018/IV (2008). Foram pesadas, aproximadamente, 5 g da amostra em um cadinho previamente aquecido em mufla a 550 °C, resfriado em dessecador até a temperatura ambiente (30 °C) e tarado. O material foi levado para carbonização a 200 °C e incinerado a 500 °C. Esperou-se a redução da temperatura. Os cadinhos foram retirados da mufla e colocados em dessecador para que resfriassem. Relacionou-se a perda de peso para 100 g da amostra integral.

4.3.6 Acidez titulável (AT)

Para a determinação de AT adicionou-se 1 g de purê diluído em 50 mL de água destilada. Depois de homogeneizada, a solução foi filtrada com papel de filtro

qualitativo e adicionada de 3 gotas de indicador fenolftaleína. Em seguida, foi feita a titulação com solução de NaOH (0,1 M) até a mudança de cor para róseo claro. Os resultados foram expressos em percentagem de ácido cítrico, segundo metodologia descrita por IAL 310/IV (2008).

4.3.7 Extrato etéreo

O extrato etéreo foi obtido por extração da amostra previamente seca (em estufa a 90 °C), com éter, por 5 horas, em aparelho tipo Soxhlet, segundo método 032/IV em IAL (2008).

4.3.8 Grupos redutores totais (GRT)

O teor de grupos redutores totais foi determinado segundo Bernfeld (1955), com modificações introduzidas por Miller (1959) e consolidadas em Vasconcelos *et al.* (2013), utilizando ácido 3,5-dinitrossalicílico (DNS). Sobre 0,5 mL de amostra diluída, devidamente acondicionada em tubo de ensaio, adicionou-se 0,5 mL de solução de DNS. Após vigorosa homogeneização, os tubos foram aquecidos em banho-maria a 100 °C por 5 minutos. Em seguida, os tubos foram retirados e rapidamente resfriados com água corrente. Adicionaram-se 4 mL de água destilada à mistura reacional e procedeu-se nova homogeneização. A intensidade da cor foi quantificada em espectrofotômetro Varian Cary 50 a 540nm. A concentração de GRT foi determinada utilizando curvas-padrões previamente estabelecidas, conforme

4.3.9 Açúcares totais

O teor de açúcares totais foi determinado segundo Miller (1959), utilizando ácido 3,5-dinitrossalicílico (DNS). Sobre 1 mL de amostra diluída, devidamente acondicionada em tubo de ensaio, adicionou-se 1 mL de solução de HCl 2N. Após vigorosa homogeneização, os tubos foram aquecidos em banho-maria a 100 °C por 2 minutos. Em seguida, os tubos foram retirados e rapidamente resfriados com água corrente. Adicionaram-se 3 mL de solução NaOH 1M. Após

neutralização, fez-se o procedimento utilizando a metodologia descrita para GRT (Ítem 4.6.8).

4.3.10 Pectina, hemicelulose e celulose + lignina (AIR)

A análise de pectina foi baseada na metodologia de Schieber *et al.* (2005). Pesaram-se 30 g de purê de abóbora que foram homogeneizadas em 300 mL de etanol (80% v/v) fervente com auxílio de um mixer marca Walita, permanecendo sob aquecimento por 1 hora a 80 °C. A seguir, realizou-se centrifugação a 10.000 rpm durante 10 minutos e filtrou-se o centrifugado a vácuo, coletando o resíduo. O resíduo foi lavado com etanol quente até obter um extrato com filtrado claro. O extrato foi colocado em agitação com 50 mL de acetona. A agitação ocorreu em shaker orbital (TE-420 marca Tecnal) a 150 rpm por 12 horas. Foi realizada nova filtração e em seguida secou-se em exaustor por 24 horas. Realizou-se a pesagem e assim obteve-se o AIR (resíduo insolúvel em álcool).

Foram pesados 0,8 g do AIR e adicionados 50 mL de solução alcalina de EDTA (0,05 M NaOH; 0,5 mM EDTA) à amostra. O material foi incubado em shaker orbital a 30 °C, 150 rpm durante 1 hora. Em seguida, realizou-se filtração a vácuo. O resíduo foi coletado e lavado com água destilada. Esse resíduo foi reservado para a quantificação da hemicelulose. Ajustou-se o pH do sobrenadante para 6,5. A solução foi colocada na diálise em membranas de diálise Dyalises membrane cellulose de espessura 33 mm (SIGMA ALDRICH) com água destilada por 48 horas. Após a diálise, o líquido das membranas foi coletado e adicionou-se álcool comercial na proporção 3:1 (álcool:líquido), deixando repousar por 24 horas. Após o descanso, a amostra foi seca em estufa a 60 °C e pesada para a determinação do teor de pectina.

Para a determinação da hemicelulose, o resíduo reservado na análise de pectina foi colocado sob agitação em 50 mL de solução de NaOH 16% por 5 horas a 30 °C. Posteriormente, realizou-se centrifugação a 10.000 rpm por 20 minutos. Foi realizada filtração a vácuo, coletando o resíduo e lavando com água destilada por duas vezes. O resíduo foi separado para quantificação da celulose + lignina. O pH do sobrenadante foi ajustado para 6,5. A solução foi colocada na diálise. Ao final da diálise, o líquido das membranas foi coletado e adicionou-se álcool comercial na proporção 3:1 (álcool:líquido), deixando em repouso por 24 horas. Após o descanso,

a amostra foi seca em estufa a 60 °C e pesada para a determinação da hemicelulose.

Ao resíduo reservado na etapa anterior, foram adicionados 100 mL de água destilada. A amostra foi colocada em diálise e seguiram-se as mesmas etapas da quantificação de pectina e hemicelulose. A amostra foi pesada e incinerada em mufla a 550 °C. Para determinar celulose + lignina, retirou-se a diferença de peso referente às cinzas. Os resultados foram determinados através da relação de peso de cada fração com o peso do AIR total da amostra e expressos em $\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ polpa.

4.3.11 Amido

A determinação de amido no purê de abóbora foi realizada segundo a metodologia descrita por AOAC (2005), utilizando o ácido 3,5-dinitrosalicílico. Tomaram-se 5 g da amostra e adicionaram-se, 30 mL de água destilada. O material foi centrifugado a 3.000 rpm por 10 minutos. Realizaram-se três lavagens com água destilada, descartando-se o sobrenadante. Transferiu-se o resíduo para um erlenmeyer de 250 mL com 50 mL de água destilada. Adicionaram-se 5 mL de HCl P.A (padrão analítico). O material foi levado ao refluxo onde permaneceu por 2 horas. Esperou-se o material esfriar e realizou-se neutralização com Na_2CO_3 (20% p/v), sendo verificado utilizando-se papel de tornassol. Filtrou-se o material em funil de vidro com papel filtro qualitativo, transferiu-se o sobrenadante para um balão volumétrico de 250 mL e aferiu-se com água destilada. Agitou-se o balão, tendo o cuidado de destampá-lo a cada agitação para a saída do gás proveniente do Na_2CO_3 . Retirou-se uma alíquota de 1 mL, transferiu-se para um tubo de ensaio, adicionou-se 1 mL de DNS, agitou-se em agitador de tubos e levou-se ao banho-maria a 100 °C por 5 minutos. Esfriou-se em banho de gelo, e adicionaram-se 8 mL de água destilada e agitou-se novamente em agitador de tubos. A leitura foi realizada em espectrofotômetro Varian Cary – 50 a 540nm.

4.4 CARACTERIZAÇÃO DAS PREPARAÇÕES ENZIMÁTICAS

Para determinar a atividade enzimática de cada preparação comercial foram feitas as seguintes análises bioquímicas: poligalacturonase,

pectinametilesterase, pectinaliase, celulase, xilanase e amilase. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

4.4.1 Poligalacturonases

A determinação da atividade enzimática das poligalacturonases foi realizada de acordo com Couri *et al.* (2003). Em tubos de ensaio, adicionaram-se 4 mL de solução 0,25% de ácido poligalacturônico que foram mantidos em banho termostático a 35 °C por 10 minutos. Em seguida, adicionou-se 0,1 mL do extrato enzimático devidamente diluído. Após 30 minutos de reação transferiu-se 0,1 mL do meio reacional para tubo contendo 1 mL de DNS, completando o volume com 0,9 mL de água destilada. A atividade de poligalacturonase foi expressa em U.mL⁻¹, onde uma unidade corresponde a 1 μmol de ácido galacturônico por mL por minuto nas condições de reação.

4.4.2 Pectinametilesterases

A metodologia utilizada para a determinação da atividade enzimática das pectinametilesterases foi baseada em Ceci e Lozano (1998). Em um béquer adicionaram-se 30 mL de solução de pectina 1 % (p/v), com pH previamente ajustado para 7,0, e 6 mL do extrato enzimático. Realizou-se titulação com NaOH 0,01 M ajustando o pH do conteúdo do bécher para 7,0 após 10 minutos de reação. Anotou-se o volume de NaOH gasto para o ajuste do pH. A atividade da pectinametilesterase foi expressa em U.mL⁻¹, onde uma unidade de pectinametilesterase corresponde à quantidade de enzima que libera 1 mmol de grupos carboxílicos por hora de reação.

4.4.3 Pectinaliases

A determinação da atividade enzimática das pectinaliases foi realizada de acordo com o método descrito por Ceci e Lozano (1998). Em tubos de ensaio adicionaram-se 2,5 mL de solução de pectina 2% (p/v), 0,5 mL de CaCl₂ (0,01 M) e 21 mL de tampão acetato. Em seguida, os tubos foram colocados em banho termostático a 35 °C por 10 minutos. Adicionou-se 1 mL do preparo enzimático

devidamente diluído, agitou-se e realizou-se imediatamente a leitura em espectrofotômetro a 235 nm. A amostra retornou ao banho e realizou-se nova leitura após 10 minutos de reação. A atividade de pectinaliase foi expressa em U.mL^{-1} , onde uma unidade representa 1 μmol de 4,5 glicosídeo uronato produzido por minuto de reação em pH 5,5 nas condições de reação, por mL do preparado enzimático.

4.4.4 Celulases

A determinação da atividade enzimática das celulases foi realizada baseada em Gomes *et al.* (2002). Aos tubos de ensaio, adicionaram-se 0,9 mL de solução de celulose 1% (p/v) e manteve-se em banho termostático a 40 °C por 10 minutos. Em seguida, foi adicionado 0,1 mL do complexo enzimático devidamente diluído. A amostra foi incubada em banho termostático sob agitação por 60 minutos. Para a paralisação da reação foi adicionado 1 mL de DNS e realizou-se homogeneização. Os grupos redutores totais liberados foram quantificados, segundo Vasconcelos *et al.* (2013). A atividade de celulase foi expressa em U.mL^{-1} , onde uma unidade corresponde à quantidade de enzima que libera 1 mmol de glicose por minuto.

4.4.5 Xilanases

A determinação da atividade enzimática das xilanase foi realizada de acordo com Gomes *et al.* (2002). Em tubos de ensaio, adicionaram-se 0,5 mL de solução de xilana 1% (p/v) e 0,5 mL do complexo enzimático diluído em balão volumétrico. Os tubos foram levados ao banho termostático a 60 °C por 10 minutos. A reação foi paralisada adicionando em cada tubo 1mL de DNS, homogeneizou-se e procedeu-se a análise de grupos redutores totais. No branco não ocorreu reação. A atividade de xilanase foi expressa em U.mL^{-1} , onde uma unidade corresponde a 1 μmol de xilose por mL, por minuto nas condições de reação.

4.4.6 Amilases

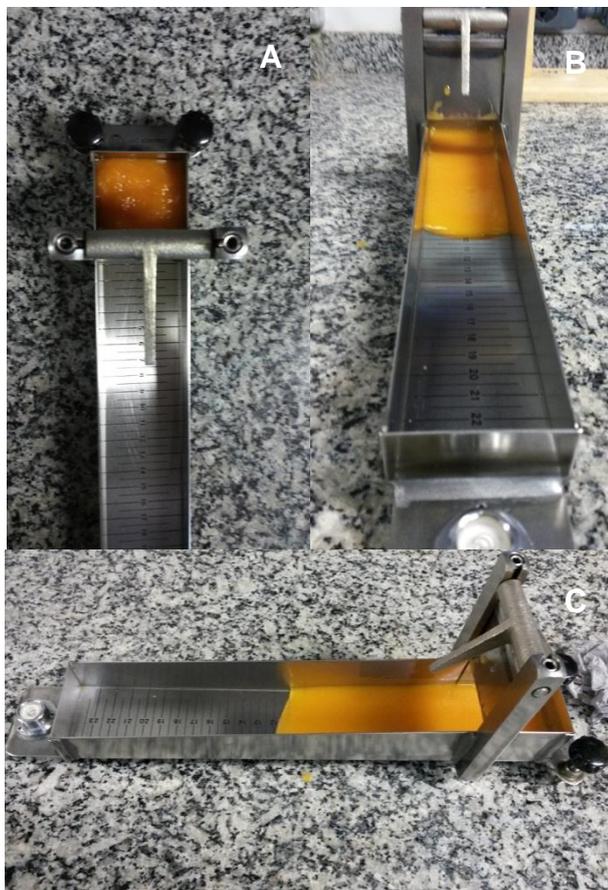
A determinação da atividade enzimática das amilases foi realizada de acordo com Pinto (2002). Adicionou-se 1 mL de solução de amido 2% (p/v) e manteve-se em banho termostático a 37 °C por 10 minutos. Em seguida, adicionou-se 1 mL do complexo enzimático que foi incubado no banho termostático, sob agitação, por 15 minutos. Para a paralisação da reação foi adicionado 0,5 mL de NaOH 1N. Transferiu-se 1 mL para tubos contendo 1 mL de DNS, quantificaram-se os grupos redutores totais liberados, segundo Miller (1959). A atividade de amilase foi expressa em $U \cdot mL^{-1}$, onde uma unidade é correspondente a quantidade de enzima que hidrolisa 10 mg de amido em 30 minutos, a uma temperatura de 37°C.

4.5 ANÁLISE DA CONSISTÊNCIA

Com um cronômetro em mãos, 75 g de amostra foi colocada na parte superior de um consistômetro de Bostwick - CSC Scientific, disparando-se a alavanca e o cronômetro ao mesmo tempo. A amostra foi liberada de um compartimento ao outro do equipamento e escorreu, sob a força da gravidade, sobre uma escala de 24 cm com divisões de 0,5 cm (Figura 10). Mediu-se a distância que as amostras percorreram no tempo de 30 segundos (fluxo do purê). A distância percorrida pelo purê mostra o quanto a amostra se deslocou pela superfície do consistômetro. Portanto, quanto maior esse deslocamento, maior a redução da consistência ou maior a fluidez do purê (BOURNE, 2002).

A consistência do purê não macerado também foi medida e a diferença entre esse valor e o da amostra no tempo final de cada maceração foi utilizada como um índice de fluidez do purê (IF). Quanto maior o valor do índice, maior a fluidez da amostra.

Figura 10 – Análise de consistência do purê de abóbora. A) Purê colocado no compartimento superior; B) e C) Após disparar a alavanca.

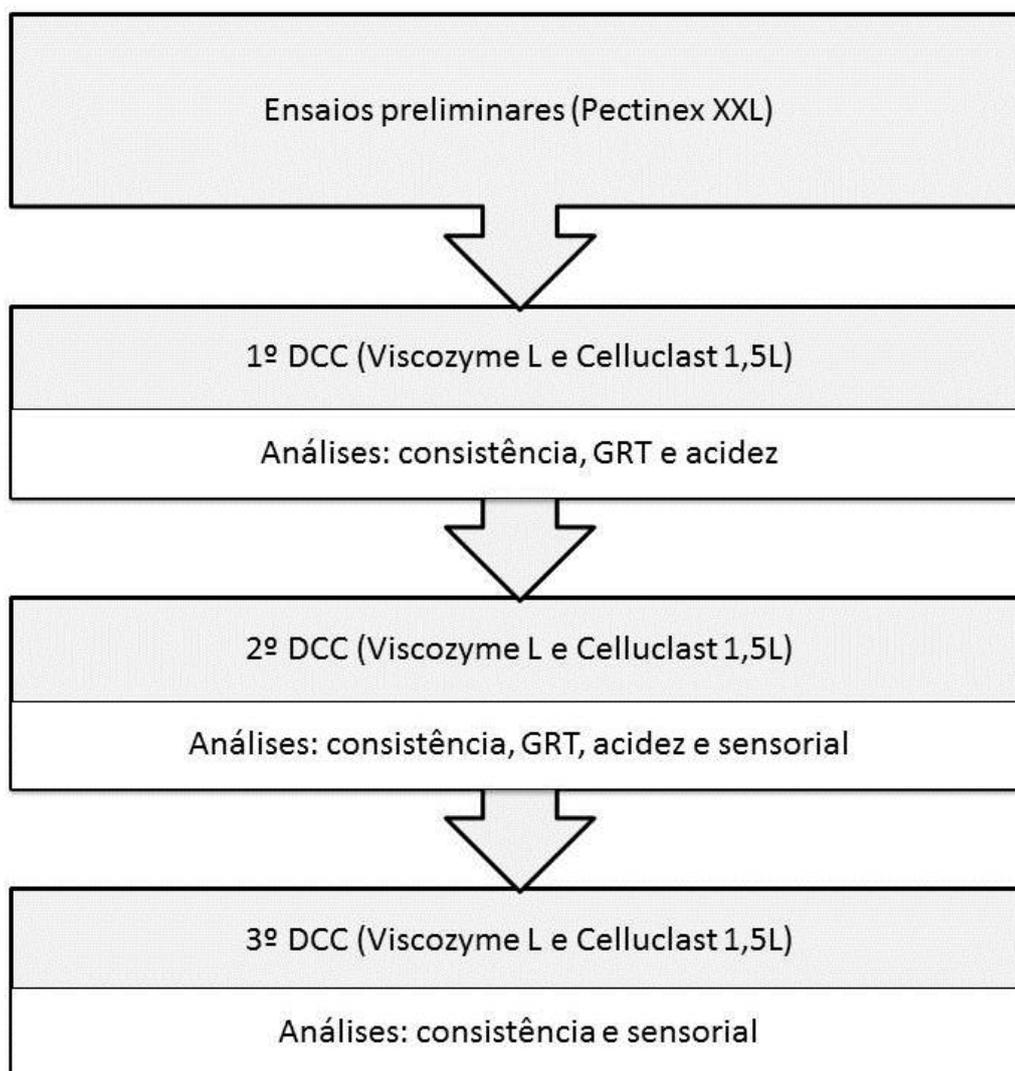


Fonte: Elaborado pelo autor.

4.6 AVALIAÇÃO DA MACERAÇÃO ENZIMÁTICA

O resumo das etapas dos três planejamentos estudados para a avaliação da maceração enzimática e suas respectivas análises, estão apresentadas no fluxograma da Figura 11.

Figura 11 – Fluxograma das etapas de maceração e análises



4.6.1 Ensaio preliminar

Para reduzir a consistência do purê de abóbora, inicialmente foram testadas macerações com uma preparação enzimática de caráter pectinolítico e xilanolítico, a Pectinex XXL. Foram utilizadas as seguintes condições: 4000 ppm de Pectinex XXL, tempos de incubação de 0, 2, 4 e 6 h e temperatura de 30 °C, com duas repetições para cada amostra.

Em erlemeyers de 250 mL, foram adicionados 50 g de purê de abóbora e 25 mL de água destilada para permitir a homogeneização do material, e ação das enzimas. Essa é uma quantidade suficiente para ser utilizada no consistômetro de

Bostwick, o qual possui capacidade para 75 gramas de amostra. Em seguida, foi adicionada a preparação enzimática.

Os frascos foram homogeneizados manualmente por alguns segundos e incubados em agitador orbital (150 rpm). Após o tempo de incubação, as amostras foram analisadas quanto à consistência, em consistômetro de Bostwick, teores de grupos redutores totais (GRT) e acidez total (AT), de acordo com as metodologias descritas nos itens 4.5, 4.3.8 e 4.3.6, respectivamente.

4.6.2 Redução da consistência do purê de abóbora

Após a etapa preliminar, novas macerações foram realizadas utilizando o mesmo procedimento e as mesmas proporções de purê e água, 2:1 (p:v), descritos anteriormente. O purê de abóbora diluído foi macerado com uma combinação de duas preparações enzimáticas, Viscozyme L e Celluclast 1,5L. A quantidade de cada preparação (1000 a 4000 ppm), bem como o tempo (2 a 4 h) e a temperatura de maceração (30 °C a 40 °C) (Tabela 2), variaram de acordo com um Delineamento Composto Central (DCC) com 4 variáveis independentes e 3 repetições no ponto central, totalizando 19 experimentos ($2^k + PC$, onde $k = n^\circ$ de variáveis).

Tabela 2 – Valores utilizados no primeiro Delineamento Composto Central (DCC)

Fator	Nível		
	-1	0	+1
Celluclast 1,5 L (ppm)	1000	2500	4000
Viscozyme L (ppm)	1000	2500	4000
Tempo (horas)	2	3	4
Temperatura (°C)	30	35	40

Após a adição das enzimas, os frascos foram homogeneizados manualmente por alguns segundos e incubados em agitador orbital (150 rpm). Após o tempo de incubação, as amostras foram submetidas às mesmas análises do item 4.6.1.

4.6.3 Desenvolvimento do néctar de abóbora

O segundo planejamento foi realizado com o mesmo procedimento descrito anteriormente, com redução das concentrações das enzimas Viscozyme L e Celluclast 1,5L e aumento da temperatura. A quantidade de cada preparação (500 a 1500 ppm), bem como o tempo (2 a 4 h) e a temperatura de maceração (40 °C a 50 °C), variaram de acordo com um Delineamento Composto Central (DCC) com 4 variáveis independentes e 3 repetições no ponto central, totalizando 19 experimentos ($2^k + PC$, onde $k = n^{\circ}$ de variáveis) (Tabela 3).

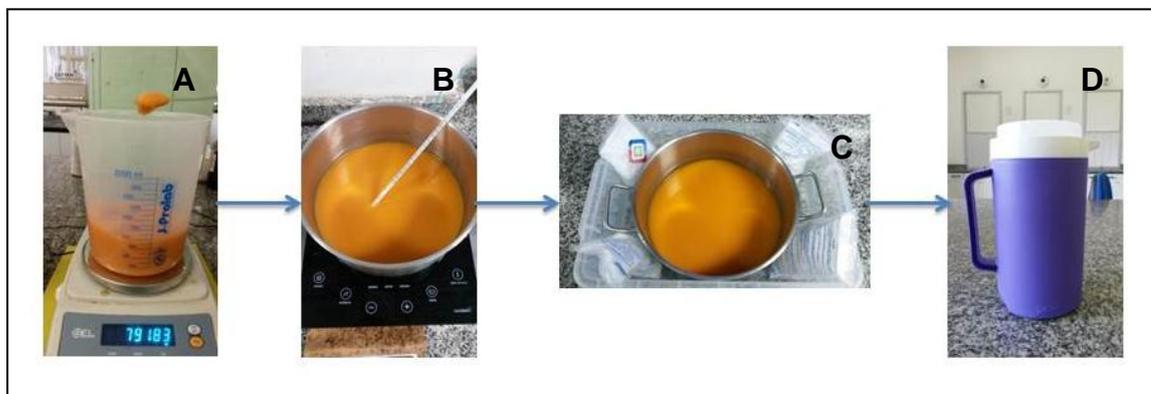
Tabela 3 – Valores utilizados no segundo Delineamento Composto Central (DCC)

Fator	Nível		
	-1	0	+1
Celluclast 1,5 L (ppm)	500	1000	1500
Viscozyme L (ppm)	500	1000	1500
Tempo (horas)	2	3	4
Temperatura (°C)	40	45	50

Após incubação as amostras foram submetidas às mesmas análises do item 4.6.1. Em seguida, foram selecionadas três amostras, representantes de três níveis de consistência (alta, média e baixa), para formulação dos néctares a 30% e 50% de purê, os quais foram submetidos à análise sensorial em sessões distintas. Em cada uma das sessões foram testadas três amostras, totalizando 6 amostras de néctares.

Para formulação do néctar de abóbora, após a pesagem do purê, foi feito um balanço de massa adicionando água e sacarose suficiente para atingir 11°Brix. As bebidas foram formuladas, homogeneizadas manualmente e submetidas a tratamento térmico em fogão doméstico sob agitação manual a uma temperatura de 90 °C durante 60 segundos, com posterior resfriamento em banho de gelo. O néctar foi acondicionado em jarras de suco comum e armazenado sob refrigeração (10 °C) para consumo imediato (Figura 12).

Figura 12 - Etapas para obtenção do néctar de abóbora: A) Formulação; B) Pasteurização; C) Resfriamento; D) Acondicionamento.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Para a análise sensorial, foram recrutados cinquenta e dois consumidores de acordo com o procedimento descrito por Stone e Sidel (2004). Antes do teste, os provadores foram convidados a assinar um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice C). Todos os testes foram realizados em cabines individuais, com luz e temperatura controladas (24 °C), equipadas com terminais de computador para a coleta de dados utilizando software FIZZ (versão 2.3). Os procedimentos dos testes sensoriais foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual do Ceará, sob o Parecer Número 147.279 (Apêndice D).

Os néctares (50 ml) foram servidos aos provadores à temperatura usual de consumo (16 °C a 18 °C), em taças de vidro codificadas com números aleatórios de três dígitos, apresentadas em uma ordem balanceada (MACFIE *et al.*, 1989), como mostra a Figura 13. As amostras foram avaliadas sob luz branca (tipo "luz do dia"). Os provadores foram convidados a registrar sua impressão de aceitação da consistência e aceitação global em uma escala hedônica verbal de nove pontos que variou de "gostei muitíssimo" a "desgostei muitíssimo". Uma escala do ideal de cinco pontos (MEILGAARD; CIVILLE; CARR, 2006) foi utilizada para avaliar a intensidade da consistência, em que os provadores registraram sua opinião, de acordo com seu próprio padrão mental para esse tipo de produto (Apêndice A).

Figura 13 – Julgador recebendo as amostras em cabine individual



Fonte: Elaborado pelo autor.

4.6.4. Terceiro Planejamento

O terceiro planejamento experimental foi realizado, reduzindo as concentrações de enzimas e o tempo de maceração. Nessa etapa foi fixado o valor da quantidade da preparação enzimática Viscozyme L em 500 ppm, variando apenas a quantidade de Celluclast 1,5L (1000 a 1500 ppm), o tempo (1 a 2 h) e a temperatura de maceração (40 °C a 50 °C), de acordo com um Delineamento Composto Central (DCC) com 3 variáveis independentes e 3 repetições no ponto central, totalizando 11 experimentos ($2^k + PC$, onde $k = n^{\circ}$ de variáveis (Tabela 4), Para avaliar o efeito das condições testadas foi feita somente análise de consistência (metodologia do item 4.7). Em seguida, foram selecionadas algumas amostras, representantes de três níveis de consistência (média alta, alta e média), para formulação dos néctares a 50%, os quais foram submetidos à análise de aceitação global, aceitação do sabor, aceitação da consistência e escala do ideal para consistência, conforme descrito no item 4.5.

Tabela 4 – Valores utilizados no terceiro Delineamento Composto Central (DCC)

Fator	Nível		
	-1	0	+1
Celluclast 1,5 L (ppm)	1000	1250	1500
Tempo (horas)	1	1,5	2
Temperatura (°C)	40	45	50

Ao serem avaliados os resultados desses testes, de acordo com a classificação da consistência, foram selecionadas duas condições de maceração do purê de abóbora para formulação de néctares com 50% de purê, os quais foram submetidos aos testes de simples diferença, comparação pareada diferença para sabor e consistência e teste de comparação pareada preferência (Apêndice B).

4.7 ANÁLISE DOS COMPOSTOS VOLÁTEIS SPME – CG

4.7.1 Preparo das amostras

Foram avaliadas amostras de abóbora in natura, purês não macerado e macerado enzimaticamente, e do néctar feito com o purê macerado enzimaticamente:

- Abóbora in natura: Após descascar e retirar as sementes, pedaços de abóbora foram triturados em um processador industrial Robot Coupe, acondicionados em sacos plásticos e congelado.
- Purê diluído não macerado: Ao purê (obtido de acordo com o item 4.2) foi adicionada somente água na razão 50:25 (purê:água), homogeneizado e congelado.
- Purê diluído macerado enzimaticamente: Ao purê foram adicionadas água na razão 50:25 (purê:água) e as preparações enzimáticas. As condições utilizadas foram selecionadas ao final das análises sensoriais: 500 ppm de Viscozyme L, 1250 ppm de Celluclast 1,5L a 45 °C por 1,5 h em agitador orbital (150 rpm).
- Néctar: O néctar foi formulado com 50% de purê macerado (500 ppm de Viscozyme L, 1250 ppm de Celluclast 1,5L a 45 °C por 1,5 h) seguindo como descrito no item 4.6.3.

4.7.2 Metodologia

A análise de voláteis foi realizada em um GCMS QP-2010 (Kioto, Japão), com impacto de elétrons de 70eV, coluna DB5-MS metilpolissiloxano (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm; J&W Scientific Inc., Folsom, EUA), modo de injeção com divisão de fluxo de 1:20, gás carreador Hélio com fluxo na coluna de 1,0 mL/min, temperatura do injetor de 230°C, temperatura da linha de transferência e da fonte de íons de 230 °C, respectivamente. A rampa de temperatura da coluna iniciou em 35 °C, mantida por 5 minutos, sendo elevada até 80 °C, numa razão de 10 °C/min, posteriormente elevada até 120 °C numa razão de 5 °C/min, mantida por 10 minutos, e atingindo uma temperatura final de 200 °C a 5 °C/min, mantida por 10 minutos.

Para a extração dos compostos voláteis das amostras de abóbora in natura, purê de abóbora macerado e não macerado e do néctar foi utilizada a técnica de microextração em fase sólida no espaço confinado (headspace) entre a amostra e frasco vedado. Porções de 5 g de amostra foram pesadas em tubos vials com 1 g de NaCl e imediatamente tampadas com septos de silicone. Em seguida foram homogeneizados e deixados em banho-maria por 15 min a 50 °C para estabilizar a temperatura (tempo de equilíbrio) até o momento da análise. Em seguida, a fibra de SPME foi introduzida no frasco através do septo e exposta no headspace, para a extração dos compostos voláteis. Após o término do tempo de exposição da fibra, a mesma foi removida do frasco e inserida no injetor do cromatógrafo gasoso para dessorção térmica dos analitos.

A identificação dos compostos foi baseada na forma de fragmentação através da comparação do espectro de massas e dos valores dos índices de retenção de Kovats do composto desconhecido com os dados da biblioteca de database do NIST 02 (National Institute of Standards and Technology, EUA).

O método para calcular o índice de Kovats consistiu na introdução de uma série de n-alcenos (C7 – C22) conjuntamente com a amostra analisada, através da união de 1,0 µL da mistura de alcenos a 1,0 µL da amostra em uma microseringa e posterior injeção em cromatógrafo gasoso, utilizando as mesmas condições cromatográficas reportadas no item anterior. Esse índice de retenção usa a interpolação linear entre os marcadores dos hidrocarbonetos.

4.8 ANÁLISE DE CAROTENÓIDES TOTAIS

Foram avaliadas amostras de abóbora in natura, purês não macerado e macerado enzimaticamente, e do néctar feito com purê macerado enzimaticamente, descritos no ítem 4.9.1.

Os carotenoides totais foram determinados segundo a metodologia de Rodriguez-Amaya (1999), com adaptações. Foram pesados 5 g de amostra e 2 g de *celite*, os quais foram macerados com pequenas porções de acetona gelada até formar uma pasta, que foi filtrada à vácuo. Esse procedimento foi repetido até a descoloração do resíduo. O extrato cetônico foi transferido para um funil de separação contendo 30 mL de éter de petróleo, que foi lavado com quatro porções de 100 mL de água destilada, sendo a fase inferior (água e acetona) descartada e a superior (éter e carotenóides) retida no funil. O extrato foi transferido para um becker e adicionado de sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4), após decantação dos cristais de sulfato de sódio, o extrato foi transferido lentamente para um balão volumétrico de 50 mL e aferido com éter de petróleo. A determinação de carotenóides totais foi efetuada em espectrofotômetro em comprimento de onda ajustado para 450 nm e o resultado expresso em mg de carotenóides.100 g⁻¹ de amostra.

4.9 ANÁLISE DE POLIFENÓIS EXTRAÍVEIS TOTAIS (PET)

Foram avaliadas amostras de abóbora in natura, purês não macerados e macerados enzimaticamente, e do néctar feito com purê macerado enzimaticamente, descritos no ítem 4.9.1.

Preparo do extrato: Este procedimento foi adaptado de Larrauri *et al* (1997). Pesou-se a amostra e adicionou-se metanol 50%, homogeneizados e deixados em repouso por 60 minutos à temperatura ambiente. Foram centrifugados a 15.000 rpm, e transferido o sobrenadante para um balão volumétrico de 100 mL. Adicionou-se acetona 70% ao resíduo da primeira extração, homogeneizados e deixado em repouso por 60min, a temperatura ambiente. Centrifugados novamente a 15.000 rpm e transferido o sobrenadante para o balão volumétrico contendo o primeiro sobrenadante e completou-se para 100 mL com água destilada.

A partir do extrato obtido, foram preparadas diluições, e em ambiente escuro transferidas alíquotas misturando com água destilada, Reativo Fenol Folin

Ciocateau e Carbonato de sódio anidro 20%. Foram homogeneizadas e mantidas em repouso à temperatura ambiente e protegido da luz por 30 minutos. Leitura em espectrofotômetro a 700 nm. O resultado foi expresso em mg/100g de fruta (OBANDA e OWUOR, 1977).

4.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados das análises químicas, físico-químicas, bioquímicas e sensoriais foram analisados estatisticamente por meio de Análise de Variância (ANOVA) e comparação das médias pelo teste de Tukey DMS (Diferenças Máximas Significativa), ao nível de 5% de probabilidade, utilizando os programas Estatística Statsoft (Tulsa, Estados Unidos) e SAS[®]. Para tanto, as categorias da escala hedônica foram associadas a valores numéricos da seguinte forma: 9= gostei muitíssimo, 8= gostei muito, 7= gostei, 6= gostei pouco, 5= nem gostei, nem desgostei, 4= desgostei pouco, 3= desgostei, 2= desgostei muito, 1= desgostei muitíssimo. Os dados da escala do ideal foram ainda apresentados em forma de histogramas de frequência.

Para análise dos dados obtidos no Delineamento Composto Central (DCC) foi utilizado o programa Estatística Statsoft (Tulsa, Estados Unidos), considerando o p-valor = 0,05. Não foi realizada ANOVA e nem obtido um modelo, apenas análise dos efeitos principais e suas interações.

Para avaliar estatisticamente os resultados da análise dos compostos voláteis, as áreas dos picos dos cromatogramas (CG-MS) das amostras de abóbora foram submetidas a uma análise exploratória multivariada, a Análise de Componentes Principais (ACP), usando o programa XLSTAT-MX Excel software (2005).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO DO PURÊ DE ABÓBORA

Os valores encontrados nas análises de caracterização do purê de abóbora *Cucurbita moschata* são apresentados na Tabela 5.

Tabela 5 – Caracterização química e físico-química do purê de abóbora, em base úmida.

Análise	Valor médio e desvio padrão
Umidade (g.100g ⁻¹)	85,90 ± 0,19
Aw	0,995 ± 0,003
pH	6,15 ± 0,05
°Brix	8,5 ± 0,3
Cinzas (g.100g ⁻¹)	0,87 ± 0,01
Acidez (g.100g ⁻¹)	1,90 ± 0,02
Extrato etéreo (g.100g ⁻¹)	0,18 ± 0,01
Açúcares redutores (g.100g ⁻¹)	0,70 ± 0,01
Açúcares totais(g.100g ⁻¹)	3,17 ± 0,26
Amido (g.100g ⁻¹)	3,99 ± 0,02
Pectina (g.100g ⁻¹)	2,19 ± 0,10
Hemicelulose (g.100g ⁻¹)	2,76 ± 0,05
Celulose + lignina (g.100g ⁻¹)	3,13 ± 0,76

Após o processamento, a amostra de purê obtido apresentou teor de umidade de 85,9 g.100g⁻¹, valor inferior ao encontrado por Provesi (2010) em purês de abóbora 'Menina Brasileira' e 'Exposição' de 92,24 g.100g⁻¹ e 93,01 g.100g⁻¹ respectivamente. O mesmo autor encontrou ainda teores de cinzas de 0,51 g.100g⁻¹ ('Menina Brasileira') e 0,54 g.100g⁻¹ ('Exposição'), valores inferiores ao encontrado neste estudo que foi de 0,87 g.100g⁻¹.

O teor de sólidos solúveis foi 8,5 °Brix, valor dentro do intervalo encontrado por Amariz *et al.* (2009) em acessos de abóbora *Cucurbita moschata* que variaram de 7,3 a 11,5 °Brix. Ramos *et al.* (1999) observaram variação no teor de sólidos solúveis encontrados em acessos de abóbora *Cucurbita moschata* e explicaram que essa variação deveu-se possivelmente ao ambiente onde foi conduzido o experimento e ao manejo da cultura, assim como à definição do ponto de colheita, uma vez que essa variável constitui-se numa medida do estado de

maturação dos frutos e seu valor máximo é alcançado em estágio ótimo para consumo.

Daiuto *et al.* (2012) quantificou 0,15% de extrato etéreo em abóbora Paulista cozida, valor semelhante ao encontrado neste estudo (0,18%) e 0,32% de açúcares redutores, quase a metade do encontrado (0,70%). Por outro lado, Silva (2012) encontrou valores superiores para açúcares redutores (1,90 g.100g⁻¹) e totais (5,01 g.100g⁻¹). Açúcares solúveis totais são carboidratos de baixo peso molecular, componentes dos sólidos solúveis totais, responsáveis diretos pela determinação do sabor doce dos frutos (SANTOS *et al.*, 2005).

O purê de abóbora estudado contém uma quantidade significativa de pectina (2,19 g.100g⁻¹) e componentes de alto peso molecular, como hemicelulose (2,76 g.100g⁻¹) e celulose e lignina (3,13 g.100g⁻¹).

5.2 ENSAIOS PRELIMINARES

Como as substâncias predominantes no purê de abóbora foram as macromoléculas pectina, hemicelulose e celulose + lignina (que fazem parte da estrutura da parede celular vegetal) e também o amido (macromolécula de reserva energética presente na célula vegetal), procurou-se escolher preparações enzimáticas capazes de degradá-las para reduzir a consistência do purê de abóbora. Por esse motivo, optou-se por adicionar ao purê preparações enzimáticas com caráter hidrolítico específico para cada macromolécula, ou seja utilizar enzimas pectinolíticas, xilanolíticas, celulolíticas e amilolíticas ou suas combinações.

Pensando nisso, buscou-se uma preparação pectinolítica que após hidrólise, aumentará a fluidez do purê. Devido ao teor de pectina presente no purê de abóbora, a estratégia inicial foi buscar enzimas que degradassem essa macromolécula.

5.2.1 Utilização de Pectinex XXL na maceração enzimática do purê de abóbora

Primeiramente, para a etapa de maceração, escolheu-se a preparação enzimática Pectinex XXL. Segundo o manual da Novozymes (2015) que acompanha

a preparação, a principal característica dessa preparação enzimática é fornecido por pectina liase que catalisa a eliminação da clivagem beta 1,4 de éster de metil (1,4) - alfa-D-galacturonano dando origem a oligossacáridos com grupos 4-desoxi-6-O-metil- α -D-galato-4-enuronosil em suas extremidades não redutoras.

Os valores das atividades enzimáticas determinadas pelas metodologias descritas neste trabalho encontra-se na Tabela 6.

Tabela 6 – Atividade enzimática da preparação enzimática Pectinex XXL.

Preparação enzimática	Atividade enzimática (U/mL)					
	PG ¹	PME ²	PL ³	Celulase	Xilanase	Amilase
Pectinex XXL	324 ± 213	7918 ± 1	3,9 ± 1,4	0,8 ± 0,6	202,8 ± 15,3	51,4 ± 0,4

¹Poligalacturonase, ²Pectinametilesterase, ³Pectinaliase.

Contudo, o perfil da preparação enzimática Pectinex XXL mostrou ter outras pectinases, além da presença de outras enzimas, como xilanases, celulases e amilases (Tabela 6).

Na Tabela 7 observa-se que, ao final de 6 horas de maceração com Pectinex XXL, o purê de abóbora manteve a consistência, não havendo diferença significativa entre as amostras. No entanto, houve liberação dos grupos redutores totais (GRT) durante o processo (Tabela 7). Isso indica que apesar das enzimas atuarem na hidrólise das macromoléculas, isto não se refletiu na fluidez.

A distância percorrida pelo purê mostra o quanto a amostra se deslocou pela superfície do consistômetro. Os resultados desse instrumento não podem ser convertidos em parâmetros fundamentais reológicos, pois a tensão superficial, o poder molhante, e possivelmente outros fatores, exceto a viscosidade também estão envolvidos. No entanto, é uma ferramenta de controle de qualidade rápida e útil para os produtos que têm um limite de elasticidade, mas não é muito dura (BOURNE, 2002).

Tabela 7 – Avaliação da consistência e valores de grupos redutores totais (GRT) do purê de abóbora sem enzima e macerado com 4000 ppm de Pectinex XXL.

Amostra	Distância percorrida (cm)	GRT (g.100g ⁻¹)
Controle (0h)	7,8 ± 0,2a	0,65 ± 0,01c
Pectinex XXL (2h)	8,1 ± 0,0a	2,23 ± 0,03b
Pectinex XXL (4h)	8,1 ± 1,2a	2,76 ± 0,07a
Pectinex XXL (6h)	7,8 ± 1,1a	2,79 ± 0,06a

Valores seguidos da mesma letra nas colunas não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

Observando essa pequena redução da fluidez na amostra macerada (demonstrada pela distância percorrida), estima-se que poderia ter ocorrido a perda de umidade devido a amostra sofrer agitação em erlenmeyer por período prolongado (6 horas) no *shaker*. Foi realizado um breve experimento para avaliar o comportamento da amostra controle, onde consistência, Aw e umidade foram acompanhadas durante 6 horas.

O purê de abóbora torna-se mais consistente com o passar do tempo, porém este aumento não é acompanhado pela diminuição da Aw ou umidade (Tabela 8). Assim, descartou-se a possibilidade de que estivesse havendo perda de água no purê.

Tabela 8 – Avaliação da consistência, Aw e umidade de amostras de purê de abóbora sem enzima

Tempo	Distância percorrida (cm)	Umidade%	Aw
0h	4,2 ± 0,4a	89,0 ± 0,5a	0,970 ± 0,014a
2h	3,3 ± 0,4b	89,5 ± 1,3a	0,983 ± 0,002a
4h	1,9 ± 0,4c	89,2 ± 1,2a	0,983 ± 0,002a
6h	1,2 ± 0,2d	88,6 ± 0,5a	0,983 ± 0,002a

Valores seguidos da mesma letra nas colunas não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

Como segunda hipótese, supomos que a quantidade de amido presente na abóbora pudesse estar causando algum problema para o aumento da consistência do purê.

O amido é um polissacarídeo formado de amilose e amilopectina que quando aquecido, os grânulos intumescem gradualmente aumentando a quantidade de água absorvida, a viscosidade e a transparência do sistema aumentam até um

máximo, formando uma solução viscosa. Além da natureza, teor de amilose, amilopectina e concentração do amido, o pH, proteínas, sais, gorduras e açúcares presentes na solução influenciam na dureza do gel formado. A gelatinização é a dilatação dos grânulos de amido quando submetidos à água aquecida, com consequente aumento de volume. Isso acontece porque o amido é hidrófilo e a membrana que o envolve torna-se permeável com o aquecimento. O máximo de gelatinização é atingido a 95°C, quando há formação de uma massa translúcida que constitui a goma do amido (SCHMIDT, 2013).

Segundo Sá (2007), em um estudo realizado com o amido da fruta-pão, verificou-se que o poder de intumescimento de ambas as formas de amidos, nativo e modificado (amido succinilado e amido acidificado), aumentou com a temperatura, o que ocorre devido ao enfraquecimento das forças das ligações no interior do grânulo, permitindo, assim, a entrada de água nos espaços intramoleculares.

Baseado na literatura (COLMAN, 2013; INSUMOS, 2014), poderíamos especular que, durante o processo de aquecimento, há um rearranjo nas estruturas do amido (amilose e amilopectina) presente no purê de abóbora. Alguns trabalhos como o de Hoover (2001) falam de intumescimento do amido durante o aquecimento, fato que pode ter ocorrido na abóbora no momento do cozimento no processo de obtenção do purê, onde é feito por imersão em água fervente.

Na maceração, ao longo do processo de agitação, pode ter colaborado também para esse intumescimento o que favoreceria essa absorção de água.

O que pode ter ocorrido é que, por conta do intumescimento do amido presente na abóbora, diminuiu a disponibilidade de água ficando mais retida, assim com menos água, a fluidez do purê diminuiu.

O aumento da consistência no purê de abóbora não observado nas amostras maceradas (Tabela 7), provavelmente devido à quebra da estrutura do amido pela amilase presente na preparação utilizada. Após a hidrólise enzimática, como ocorre uma clivagem parcial das ligações glicosídicas resultando em uma diminuição do peso molecular, as moléculas do amido tornam-se menos resistentes podendo não manter a integridade do grânulo (SPIER, 2010).

Observa-se que a enzima não promoveu uma redução da consistência do purê, pois mesmo com o aumento do tempo de maceração as consistências das

amostras ficaram semelhantes quando comparadas com a amostra no tempo 0 hora (Tabela 7). Mas isso foi importante para manter sua consistência original, pois sem a enzima a consistência do purê teria aumentado, como pode ser observado nos dados da Tabela 8.

A hidrólise das macromoléculas pela ação das enzimas presentes na preparação Pectinex XXL, promoveu liberação de grupos redutores dissolvidos no meio, que aumentaram com o tempo. Essa preparação funcionou bem como catalisadora pois observa-se a hidrólise, contudo não se vê redução da consistência.

Ao final desta etapa, foi observado que o teor de atividade amilolítica presente em Pectinex XXL não se mostrou adequado para a redução da consistência na maceração do purê de abóbora. Assim, pensou-se em utilizar preparações enzimáticas pectinolíticas com diferentes perfis das demais hidrolases que serão capazes de hidrolisar as outras macromoléculas majoritárias no purê de abóbora, o amido e a celulose.

5.2.2 Substituição de Pectinex XXL por Viscozyme L na maceração enzimática do purê de abóbora

Viscozyme L é uma outra preparação enzimática com características de maceração. Suas atividades e a comparação com Pectinex XXL estão apresentadas na Tabela 9.

A preparação Viscozyme L é um líquido de cor castanho. Neste produto, a principal atividade enzimática é fornecido pela endo-beta-glucanase que hidrolisa ligações (1,3)- ou (1,4)- em beta-D- glucanos, além de xilanase, celulase e hemicelulase.

Tabela 9 – Atividade enzimática das preparações enzimáticas Pectinex XXL e Viscozyme L.

Preparação enzimática	Atividade enzimática (U/mL)					
	PG ¹	PME ²	PL ³	Celulase	Xilanase	Amilase
Pectinex XXL	324 ± 213	7918 ± 0,7	3,9 ± 1,4	0,8 ± 0,6	202,8 ± 15,3	51,4 ± 0,4
Viscozyme L	294 ± 136	11152 ± 1,3	4,1 ± 11,8	136,2 ± 1,3	24,7 ± 4,8	171,5 ± 2,6

¹Poligalacturonase, ²Pectinametilsterase, ³Pectinialase.

Nessa etapa de maceração, a preparação Viscozyme L foi testada, para comparar com a preparação Pectinex XXL. Os resultados da análise de consistência e do teor de GRT do purê de abóbora, obtidos ao final de 4 horas de maceração com Viscozyme L, são mostrados na Tabela 10. Viscozyme L contribuiu para um maior aumento do Índice de fluidez do purê que Pectinex XXL. Houve também maior liberação dos grupos redutores totais (GRT). Viscozyme L mostrou ser uma preparação pectinolítica capaz tanto de hidrolisar as macromoléculas, como também de reduzir a consistência do purê de abóbora.

Tabela 10 – Avaliação da consistência e valores de grupos redutores totais do purê de abóbora não macerado e macerado enzimaticamente com 4000 ppm de

Viscozyme L.

Amostra	Distância percorrida (cm)	GRT (g.100g ⁻¹)
Controle (0h)	4,9 ± 0,15	0,26 ± 0,03
Viscozyme L (4h)	7,7 ± 0,49	3,84 ± 0,09

A preparação enzimática Viscozyme L também apresenta caráter pectinolítico semelhante à Pectinex XXL, utilizada no início do estudo. Além disso, Pectinex XXL possui um caráter muito mais xilanolítico, enquanto que Viscozyme L tem um caráter celulolítico e amilolítico muito mais elevado. Essas duas preparações enzimáticas comerciais não são somente pectinolíticas, outras enzimas também estão presentes.

Como já discutido anteriormente sobre o provável intumescimento ocorrido no purê de abóbora, talvez este seja o motivo da preparação Pectinex XXL não ter sido eficiente para a redução da consistência, pois foi observado que esta enzima apenas manteve a consistência original como no tempo 0 hora, não havendo redução, necessitando de uma preparação que contenha maior quantidade de enzimas amilases para hidrolisar o amido presente e assim aumentar a fluidez do purê.

Então, a preparação pectinolítica com pectinases, mais indicada para esse trabalho foi a Viscozyme L.

5.3 AVALIAÇÃO DA MACERAÇÃO ENZIMÁTICA

Definida a preparação de caráter pectinolítico, Viscozyme L, buscou-se uma outra preparação com maior caráter celulolítico que hidrolizará a celulase presente no purê, reforçando para uma maior redução da consistência.

A preparação enzimática Celluclast 1,5L é um líquido de cor castanho. A sua principal atividade enzimática é fornecido pela celulase que hidrolisa as ligações (1,4) -beta-D-glucosídicas na celulose e outros beta-D-glucanos.

Os valores médios das atividades pectinolíticas, celulolíticas, xilanolíticas e amilolíticas encontradas nas preparações enzimáticas comerciais, Viscozyme L e Celluclast L encontram-se na Tabela 11.

Tabela 11 – Atividade enzimática das preparações enzimáticas, Viscozyme L, e Celluclast 1,5 L.

Preparação enzimática	Atividade enzimática (U/mL)					
	PG ¹	PME ²	PL ³	Celulase	Xilanase	Amilase
Viscozyme L	294 ± 136	11152 ± 1,3	4,1 ± 11,8	136,2 ± 1,3	24,7 ± 4,8	171,5 ± 2,6
Celluclast 1,5 L	ND	808 ± 47,9	5,0 ± 4,8	1096,2 ± 14,6	76,1 ± 2,8	1,4 ± 0,7

¹Poligalacturonase, ²Pectinametilsterase, ³Pectinase, ND = não detectada.

Zhang (2003) utilizou duas preparações enzimáticas, celulolítica e pectolítica, para preparar sucos de abóbora. Os efeitos das enzimas sobre a quebra da parede celular foi melhor usando a combinação de duas enzimas do que qualquer uma delas sozinha.

Conforme trabalhos de Aquino (2012) que estudou a produção de néctar de bacuri com aplicação de preparações enzimáticas e Rodrigues (2013) que obteve néctar de banana por maceração enzimática, mesmo com preparação enzimática com forte caráter pectinolítico é necessário um reforço com uma que tenha caráter celulolítico maior.

Segundo Da Silva *et al.* (1997), a ação combinada das hemicelulases e celulases apresentam efeito sinérgico que é vantajoso sob os aspectos de rendimento, operacionalidade e qualidade do produto final.

Para aumentar o efeito na redução da consistência do purê de abóbora utilizou-se a outra preparação de caráter pectinolítico que é semelhante ao de Pectinex XXL, a Viscozyme L, que também possui caráter amilolítico, combinada com a Celluclast 1,5 L, que é basicamente celulolítica com altos teores de enzimas celulasas.

Assim, na etapa seguinte, foram testadas as combinações de Viscozyme L devido ao seu caráter pectinolítico e amilolítico, e Celluclast 1,5 L, celulolítico, variando também o tempo e a temperatura de maceração.

5.3.1 Primeiro planejamento experimental utilizando as enzimas Celluclast 1,5 L e Viscozyme L

Foram utilizadas concentrações das preparações enzimáticas na faixa de 1000 a 4000 ppm, pois nos testes preliminares testou-se a maior concentração (4000 ppm) e Viscozyme L contribuiu para a redução da consistência. Pectinex XXL como não foi eficiente mesmo nessa concentração mais alta, foi então substituída por Viscozyme L.

A proposta é definir não só uma concentração de enzima eficiente para fazer a maceração como também que leve a aceitação pelo consumidor. Aquino (2013) ao macerar a polpa de bacuri com Viscozyme L, nos testes sensoriais do néctar observou que o uso de grandes quantidades dessa enzima deixava sabor residual. Para minimizar esses problemas sensoriais, utilizou também a preparação enzimática Celluclast 1,5L.

A Tabela 12 apresenta os resultados do DCC 2⁴ (total de 19 experimentos, considerando 3 experimentos realizados no ponto central), avaliando o efeito das concentrações das preparações enzimáticas Viscozyme L e Celluclast 1,5L, tempo e temperatura, nas seguintes variáveis dependentes: índice de fluidez (IF, em cm), grupos redutores totais (GRT, em %) e acidez total (AT, em %) do purê de abóbora.

Tabela 12 – DCC 2⁴ para o índice de fluidez (IF), grupos redutores totais (GRT) e acidez total (AT) do primeiro planejamento.

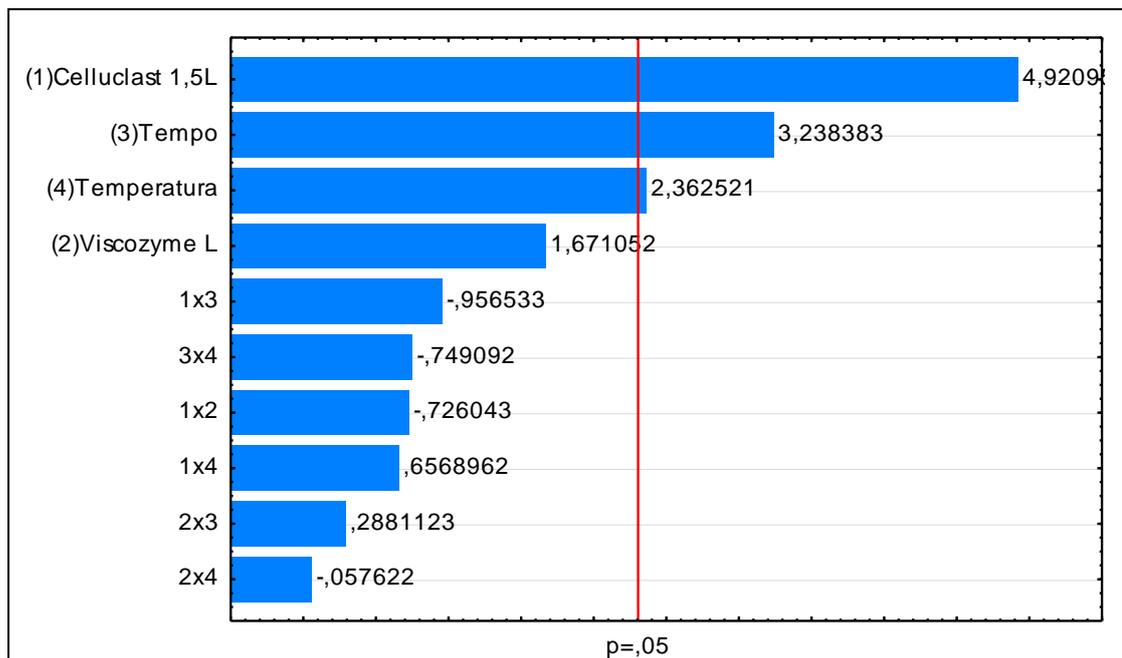
Ensaio	Celluclast 1,5 L (ppm)	Viscozyme L (ppm)	Tempo (h)	Temperatura (°C)	GRT (%)	AT (%)	IF ¹ (cm)
1	1000	1000	2	30	1,95	1,88	-1,9
2	4000	1000	2	30	3,69	2,77	5,8
3	1000	4000	2	30	3,70	2,76	-0,7
4	4000	4000	2	30	2,84	2,78	10,8
5	1000	1000	4	30	2,23	2,79	3,3
6	4000	1000	4	30	2,20	2,80	16,6
7	1000	4000	4	30	4,54	2,81	12,1
8	4000	4000	4	30	3,91	2,75	16,6
9	1000	1000	2	40	1,88	2,34	1,0
10	4000	1000	2	40	2,34	2,83	16,6
11	1000	4000	2	40	5,09	2,75	3,6
12	4000	4000	2	40	4,63	2,81	19,8
13	1000	1000	4	40	3,32	2,40	7,4
14	4000	1000	4	40	3,44	2,62	19,8
15	1000	4000	4	40	5,64	2,85	15,6
16	4000	4000	4	40	5,84	2,86	19,8
17	2500	2500	3	35	3,76	2,83	16,7
18	2500	2500	3	35	3,92	2,78	16,6
19	2500	2500	3	35	3,81	2,77	17,5

¹Índice de fluidez: diferença entre a consistência da amostra no tempo inicial (não macerada) e ao final do tempo de maceração.

Para o índice de fluidez (IF), das variáveis estudadas, as que foram significativas foi a concentração de Celluclast 1,5L, variável que mais se destacou, seguida do tempo e da temperatura (Figura 14). Ao aumentar a quantidade adicionada de Celluclast 1,5L, promoveu um aumento do IF. A celulase presente, aumentará também o nível de hidrólise da celulose que é a principal molécula estrutural de um vegetal (SJÖHOLM *et al.*, 2000). Então, no que se hidrolisa, o purê perde sua estrutura. O planejamento mostra que aumentando a concentração de Celluclast 1,5L, aumenta o efeito para IF.

O efeito do aumento da concentração de Viscozyme L não foi significativo para o aumento do índice de fluidez. A utilização de qualquer valor da concentração de Viscozyme L dentro da faixa estudada não terá efeito para o aumento do IF.

Figura 14 – Diagrama de Pareto dos efeitos padronizados para o índice de fluidez (IF) do primeiro planejamento.



Aumentando o tempo de maceração também levou um maior nível de quebra das macromoléculas estruturais, uma vez que as enzimas adicionadas ainda tinham substrato disponível para atuar. Isto além de favorecer o aumento do IF (Figura 14), também pode ser comprovado pela influência deste parâmetro no aumento da liberação de grupos redutores (Figura 15).

A temperatura sendo aumentada, favorecerá a ação das enzimas celulases, xilanases e amilases presentes em Viscozyme L e Celluclast 1,5L. Embora as fichas de dados das preparações enzimáticas não citarem as temperaturas ótimas de ação, na Tabela 13, estão descritas essas temperaturas de acordo com alguns autores. Apesar de se saber que no purê tem muita pectina, podemos comprovar que neste caso também tem bastante celulose que é muito mais significativo para a redução da fluidez

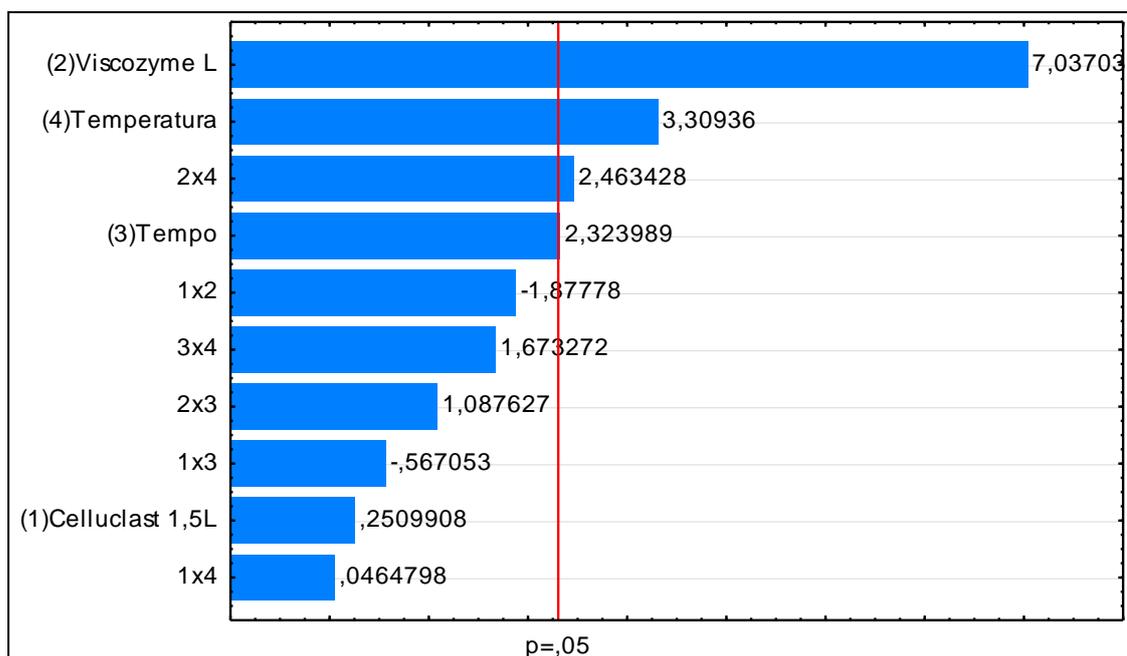
Tabela 13 – Temperatura ótima de ação das enzimas

Enzimas	Temperatura ótima (°C)	Referência
Poligalacturonase	30 - 50	Uenojo; Pastore, 2007.
Pectinametilesterase	45	Gonzalez; Rosso, 2011.
Pectinaliase	40 - 45	Uenojo; Pastore, 2007.
Celulase	50 - 55	Pardo; Forchiassin, 1999.
Xilanase	60	Isil; Nilufer, 2005.
Amilase	50	Teodoro; Martins, 2000.

No entanto, apesar da preparação Celluclast 1,5L ter apresentado uma boa contribuição para a redução da consistência, visualizado pelo índice de fluidez (IF), o seu efeito para o aumento dos GRT não foi significativo (Figura 15). Isto pode ter ocorrido devido à celulose ser uma molécula muito rígida e resistente a hidrólise, e muito mais estruturada do que a pectina, liberando poucos grupos redutores quando hidrolisada. A celulose possui cadeias que estão unidas pela rede de ligações de hidrogênio inter e intramoleculares que são responsáveis por gerarem alta rigidez na estrutura, proporcionando um elevado grau de organização cristalina (OGEDA, 2011).

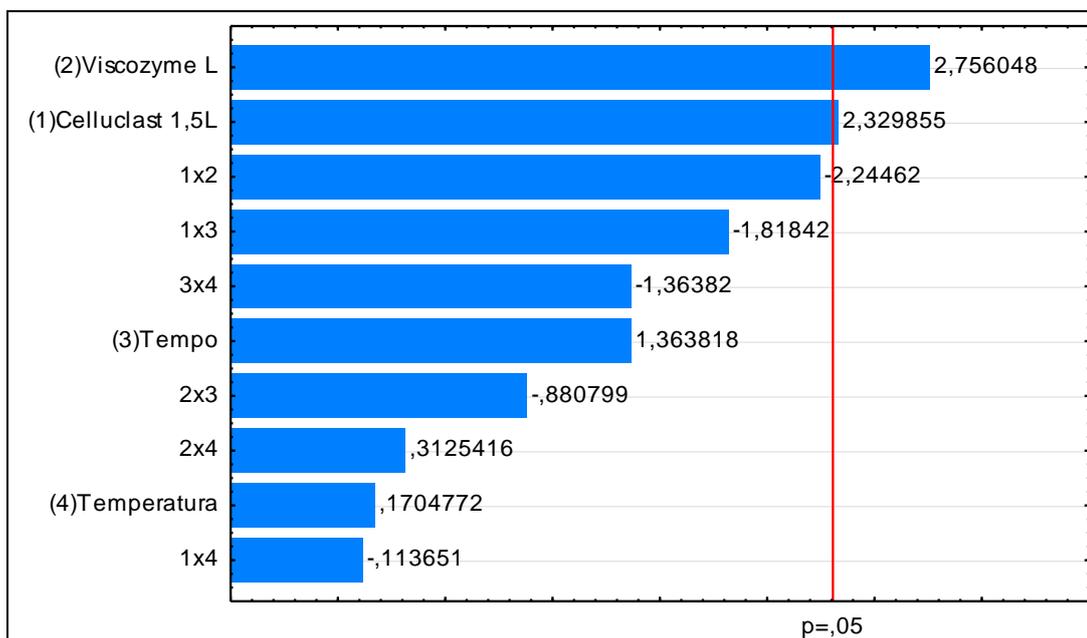
Ao contrário, as enzimas pectinases presentes na Viscozyme L não contribuíram para a redução da consistência, mas causaram a liberação de muitos grupos redutores, resultantes da hidrólise da pectina, que é uma molécula mais acessível. Também foi observada uma interação significativa entre as variáveis Viscozyme L e temperatura, influenciando positivamente nos teores de GRT. Enquanto no purê não macerado quantificou-se 0,7% de açúcares redutores, após maceração a quantidade encontrada foi de 3 a 8 vezes maior que esse valor.

Figura 15 – Diagrama de Pareto dos efeitos padronizados para liberação de Grupos Redutores Totais (GRT) do primeiro planejamento.



Para a variável acidez, as variáveis Celluclast 1,5L e Viscozyme L apresentaram efeito significativo, influenciando positivamente para o aumento da acidez do purê de abóbora (Figura 16). Isso ocorre devido à liberação dos ácidos carboxílicos e ácidos galacturônicos, o qual se excessivo, pode causar problemas na formulação de sucos ou néctares. Porém, os efeitos da temperatura e do tempo não foram significativos para a acidez (Figura 16). No purê não macerado quantificou-se 1,9% de acidez total, e após maceração, a quantidade encontrada foi de 1 a 1,5 vezes maior que esse valor.

Figura 16 – Diagrama de Pareto dos efeitos padronizados para a acidez do primeiro planejamento.



Celluclast 1,5L e Viscozyme L apresentam comportamentos distintos quando se compara os seus efeitos no índice de fluidez (IF) e os seus efeitos na liberação de grupos redutores totais (GRT). Apesar de Viscozyme L ter contribuído de forma não significativa para o aumento do IF, a pectina é uma molécula muito mais acessível que a celulose, e ela própria encontra-se naturalmente em associação com a celulose e hemicelulose, que auxiliam na adesão entre as células, sendo considerada a pectina, o principal agente cimentante da parede celular, contribuindo desta forma para firmeza, resistência mecânica e coesividade do tecido (PAIVA; LIMA; PAIXÃO, 2009). Então, se essa preparação é para hidrolisar os componentes dessa camada externa, essa influência no GRT realmente é maior.

Já a quebra da molécula estrutural celulose, apesar de liberar poucos grupos redutores totais é significativo para o aumento do índice de fluidez, pois uma vez que se tem o acesso a celulose, basta fragilizar sua estrutura, que ocorrendo isso, o purê ficará mais fluido.

A maioria das interações entre as variáveis estudadas não foram significativas, pois os efeitos primários, das variáveis isoladas, foram tão fortes que as interações não foram significativas. Neste caso, não haveria a necessidade de se

fazer um novo planejamento experimental. Porém, pelas análises de consistência observadas durante a realização dos ensaios, vimos que já estamos trabalhando no limite da fluidez, visto que algumas amostras ultrapassaram o limite do consistômetro de Bostwick (24 cm). Além disso, o purê fica com uma aparência fluida demais, há uma desintegração grande dos tecidos, poderíamos obter um purê com uma fluidez menor.

Para controlar esse excesso de fluidez, no próximo planejamento, foi reduzida a concentração da preparação enzimática Viscozyme L, seguindo a análise dos efeitos, utilizando menores concentrações. Além disso, aumentar a concentração de enzimas significa aumentar o custo com um dos insumos caros para o processo.

Celluclast 1,5L, como teve um efeito grande para o IF, reduzimos a sua concentração, que será compensado com o aumento da temperatura, que também teve efeito significativo para o aumento do IF, favorecendo a ação das celulases e o componente amilase de Viscozyme L. O complexo celulolítico agora tem um papel mais relevante que o complexo pectinolítico. É interessante também manter a concentração de Celluclast 1,5L maior que Viscozyme L, pois isso terá um impacto menor na geração de acidez no purê.

Quanto ao tempo, mesmo os efeitos indicando que poderia ser aumentado, seus valores foram mantidos, pois em um processamento longo utilizando calor poderá ocorrer uma série de mudanças indesejáveis, como a alteração no flavor, na cor e destruição de vitaminas (CORREIA *et al.*, 2008).

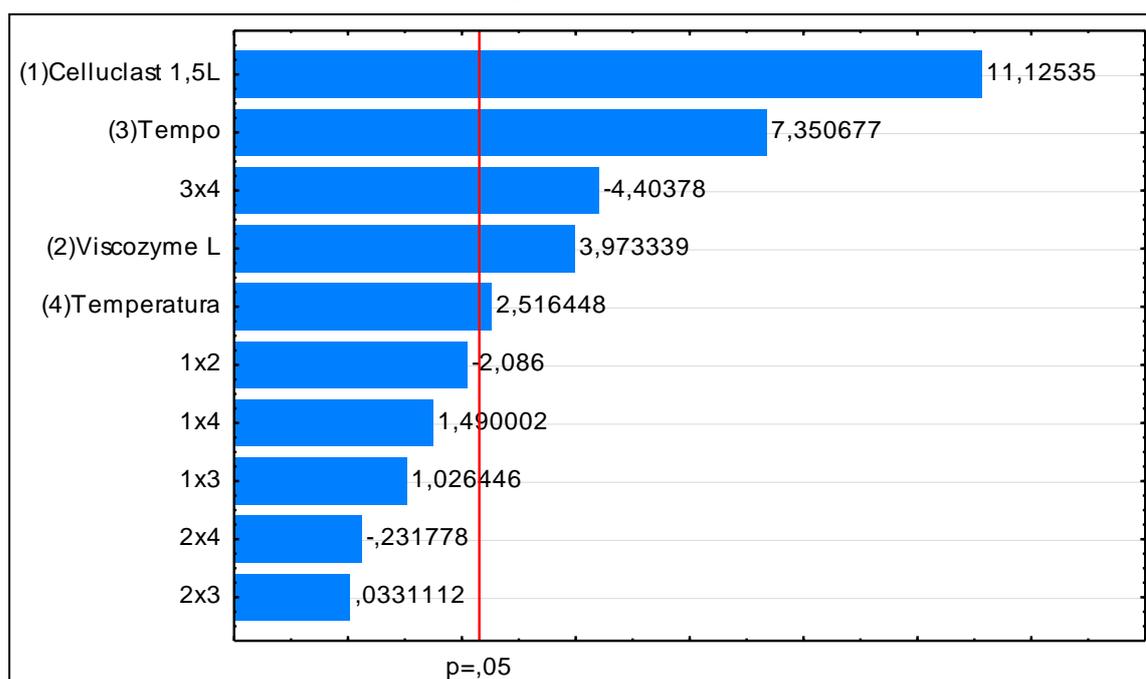
5.3.2 Segundo planejamento experimental utilizando menores concentrações das enzimas Celluclast 1,5 L e Viscozyme L, com aumento da temperatura

Apesar do primeiro planejamento ter indicado aumento na concentração de Celluclast 1,5L para o aumento do IF, e como Viscozyme L não foi significativo, utilizou-se uma menor concentração das duas enzimas (500 a 1500 ppm). A temperatura foi aumentada (40 a 50°C) e o tempo foi mantido (2 a 4 horas).

Nas Figuras 17, 18 e 19 estão apresentadas as estimativas dos efeitos do planejamento experimental com os gráficos dos efeitos padronizados. Todas as

variáveis independentes foram significativas ($p < 0,05$) para o aumento do IF (efeito positivo), correspondente à redução da consistência do purê de abóbora. A concentração da preparação Celluclast 1,5 L foi a variável que mais influenciou a redução da consistência, seguida do tempo, concentração de Viscozyme L e da temperatura. Viscozyme L, agora expressa um efeito significativo, o que não foi observado no planejamento anterior. Também foi observada uma interação significativa entre as variáveis tempo e temperatura (Figura 17), influenciando negativamente no IF do purê de abóbora, isso significa que o purê ganhou consistência. As interações entre as variáveis se aproximam da significância, neste nível de confiança ($p = 0,05$), para o IF.

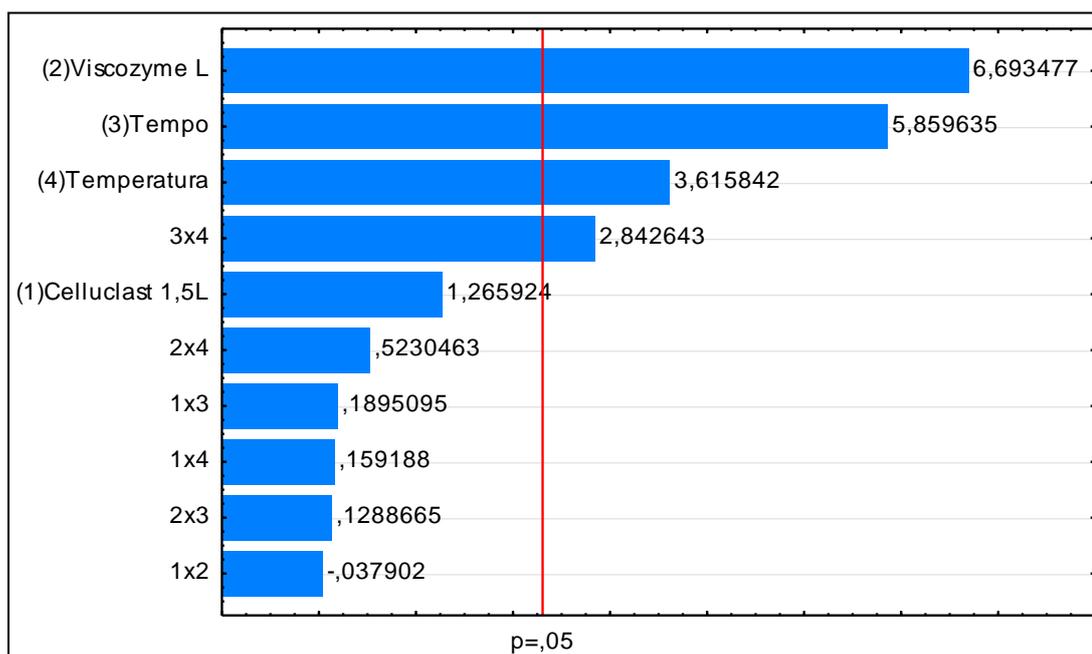
Figura 17 – Diagrama de Pareto dos efeitos padronizados para o índice de fluidez (IF) do segundo planejamento.



Com relação a variável GRT, mesmo alterando-se as faixas estudadas para as concentrações de enzimas e temperatura, ainda observa-se um comportamento semelhante ao obtido no Experimento 1, onde as variáveis Viscozyme L, tempo e temperatura apresentaram efeito positivo, sendo a Viscozyme L a variável que apresentou maior efeito sob a resposta estudada. Por sua vez, a Celluclast 1,5L não apresentou efeito significativo para a variável GRT, embora tenha apresentado efeito positivo para a redução da consistência, verificada pela elevada influência positiva

no IF. Também foi observada uma interação significativa entre as variáveis tempo e temperatura, influenciando positivamente nos GRT (Figura 18). Enquanto no purê não macerado enzima quantificou-se 0,7% de açúcares redutores, após maceração a quantidade encontrada foi de 3 a 7 vezes maior que esse valor.

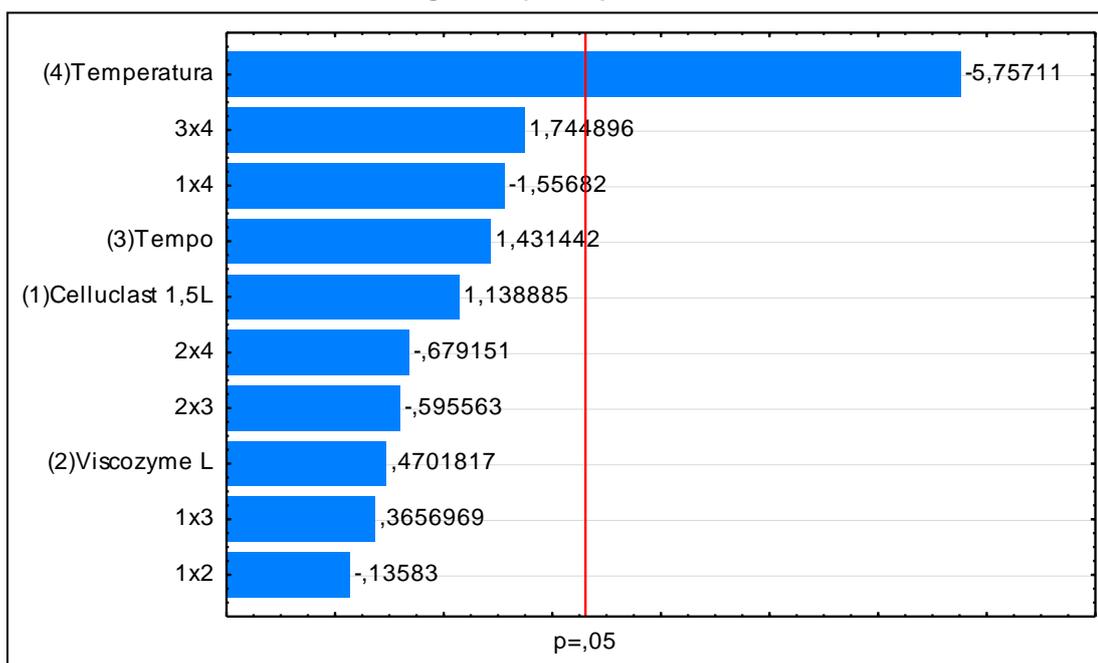
Figura 18 – Diagrama de Pareto dos efeitos padronizados para os grupos redutores totais (GRT) do segundo planejamento.



Um aumento da AT era esperado devido à liberação dos ácidos carboxílicos e galacturônicos na hidrólise da pectina (BASTOS *et al.*, 2002; WHITAKER, 1990), mas não houve efeito significativo em relação às concentrações das enzimas e tempo de maceração para esse parâmetro (Figura 19). No entanto, o aumento da temperatura provocou uma redução significativa na acidez (Tabela 12). Isso pode ser explicado pelas temperaturas ótimas de ação de cada enzima predominante nessas preparações, ou seja, uma temperatura mais alta favoreceu a ação das celulasas ($T_{\text{ótima}} = 50^{\circ}\text{C}$) presentes principalmente na Celluclast 1,5L que produzem menos ácidos, enquanto que uma temperatura menor favoreceu as poligalacturonases ($T_{\text{ótima}} = 37^{\circ}\text{C}$), presentes em Viscozyme L que produzem mais ácidos. O aumento do teor de AT é um resultado indesejado, pois quanto mais ácida estiver a polpa, mais sacarose será utilizada no momento da formulação do néctar (AQUINO, 2012). No purê não macerado foi quantificado 1,9% de acidez total, após

maceração a quantidade maior encontrada foi de 3,0%. Observou-se ainda que a interação entre o binômico tempo X temperatura foi significativo para todas as variáveis dependentes (IF, GRT e AT), indicando que a resposta do tempo maceração depende da temperatura do processo.

Figura 19 – Diagrama de Pareto dos efeitos padronizados para a acidez do segundo planejamento..



Os valores encontrados para índice de fluidez (IF), grupos redutores totais (GRT) e acidez total (AT) do purê de abóbora estão apresentados na Tabela 14. As amostras foram divididas em quatro categorias de consistência, de acordo com o valor médio obtido para o índice de fluidez, a saber: consistência muito alta (< 5,0 cm), consistência alta (<10,0 cm), consistência média (10,0 cm a 19,9 cm) e consistência baixa (> 20,0 cm). Essa classificação foi uma divisão arbitrária a partir da faixa obtida para o índice de fluidez, pois uma maior consistência indica um purê com menor IF, permitindo a seleção de distintas formulações para a etapa de análise sensorial.

Tabela 14 – Delineamento fatorial 2⁴ para o índice de fluidez (IF), grupos redutores totais (GRT) e acidez total (AT) do segundo planejamento.

Ensaio	Celluclast 1,5L (ppm)	Viscozyme L (ppm)	Tempo (h)	Temperatura (°C)	GRT (%)	AT (%)	IF ¹ (cm)	Categoria de Consistência ²
1	500	500	2	40	2,08	2,47	3,8	Muito alta
2	1500	500	2	40	2,15	2,87	9,3	Alta
3	500	1500	2	40	2,92	2,92	5,9	Alta
4	1500	1500	2	40	3,11	2,93	13,0	Média
5	500	500	4	40	2,37	2,57	9,3	Alta
6	1500	500	4	40	2,62	2,93	21,0	Baixa
7	500	1500	4	40	3,52	2,51	16,2	Média
8	1500	1500	4	40	3,74	3,03	21,0	Baixa
9	500	500	2	50	1,98	1,91	6,7	Alta
10	1500	500	2	50	2,14	1,89	16,7	Média
11	500	1500	2	50	3,18	1,91	10,8	Média
12	1500	1500	2	50	3,47	1,89	18,7	Média
13	500	500	4	50	3,38	2,37	7,8	Alta
14	1500	500	4	50	3,76	2,24	20,5	Baixa
15	500	1500	4	50	4,63	2,27	13,0	Média
16	1500	1500	4	50	4,74	2,24	20,5	Baixa
17	1000	1000	3	45	3,56	2,07	15,1	Média
18	1000	1000	3	45	3,72	2,01	15,5	Média
19	1000	1000	3	45	3,73	2,06	12,7	Média

¹Índice de fluidez: diferença entre a consistência da amostra no tempo inicial (não macerada) e ao final do tempo de maceração. ²categorias arbitradas de consistência: muito alta (< 5,0 cm), alta (5,1 cm a 10,0 cm); média (10,0 cm a 19,9 cm); baixa (≥ 20,0 cm).

Levando-se em consideração o objetivo do presente trabalho, que trata do desenvolvimento de um néctar de abóbora, há a necessidade do uso da análise sensorial como ferramenta complementar para correlacionar a interpretação das análises instrumentais às características sensoriais da amostra. A análise sensorial foi utilizada para avaliar qual o padrão de consistência (alta, média ou baixa) que o provador mais aprecia.

As formulações selecionadas foram baseadas nos seguintes critérios:

1. Escolhidos tratamentos do planejamento estatístico que foi usada a menor quantidade de Viscozyme L, pois, apesar dessa enzima contribuir para o aumento do teor de sólidos solúveis, em testes sensoriais preliminares foi observado a formação de um sabor residual amargo. Dentro da categoria de consistência média, o ensaio 10 foi o escolhido, por ser o único que se adequa a esse critério;

2. Menor temperatura possível. Pelos ensaios restantes, dentro da categoria de consistência baixa, o ensaio 6 foi o escolhido, por ser o único a se adequar a esse critério;
3. Menor tempo possível. Três ensaios restantes que estavam dentro das categoria de consistência alta, escolheu-se os de menor temperatura. Por ter a temperatura menor, o ensaio 2 foi o escolhido, restando o ensaio 1;
4. Menor índice de fluidez (IF). O ensaio 1 foi descartado por ter o IF muito pequeno.

Nesta etapa do trabalho, as formulações selecionadas foram:

- Ensaio 2 para consistência alta (CA);
- Ensaio 10 para consistência média (CM);
- Ensaio 6 para consistência baixa (CB).

Para a análise sensorial, foram elaborados néctares de abóbora com 30% de purê. A Tabela 15 apresenta as médias dos valores hedônicos dos testes de aceitação das três amostras de néctar (CA, CM e CB). A aceitação da consistência atingiu valores médios próximos a 7, correspondente a “gostei” da escala hedônica, enquanto que a aceitação global foi mais baixa, ficando na categoria “gostei pouco” (valores médios próximos a 6). Isso pode indicar que existe outra variável que não foi medida, a qual não foi muito do agrado do consumidor, e que está influenciando a aceitação global das amostras, possivelmente o sabor, devido à falta de costume dos julgadores em consumir abóbora na forma de um néctar.

Tabela 15 - Médias dos valores hedônicos dos testes de aceitação da consistência e aceitação global do néctar de abóbora com 30% de purê macerado

Amostra	Aceitação da Consistência	Aceitação Global
Alta (CA)	6,73 ^a	6,29a
Média (CM)	6,81 ^a	6,33a
Baixa (CB)	6,69 ^a	6,02a

Médias com mesma letra na coluna não diferem entre si a 5% de significância

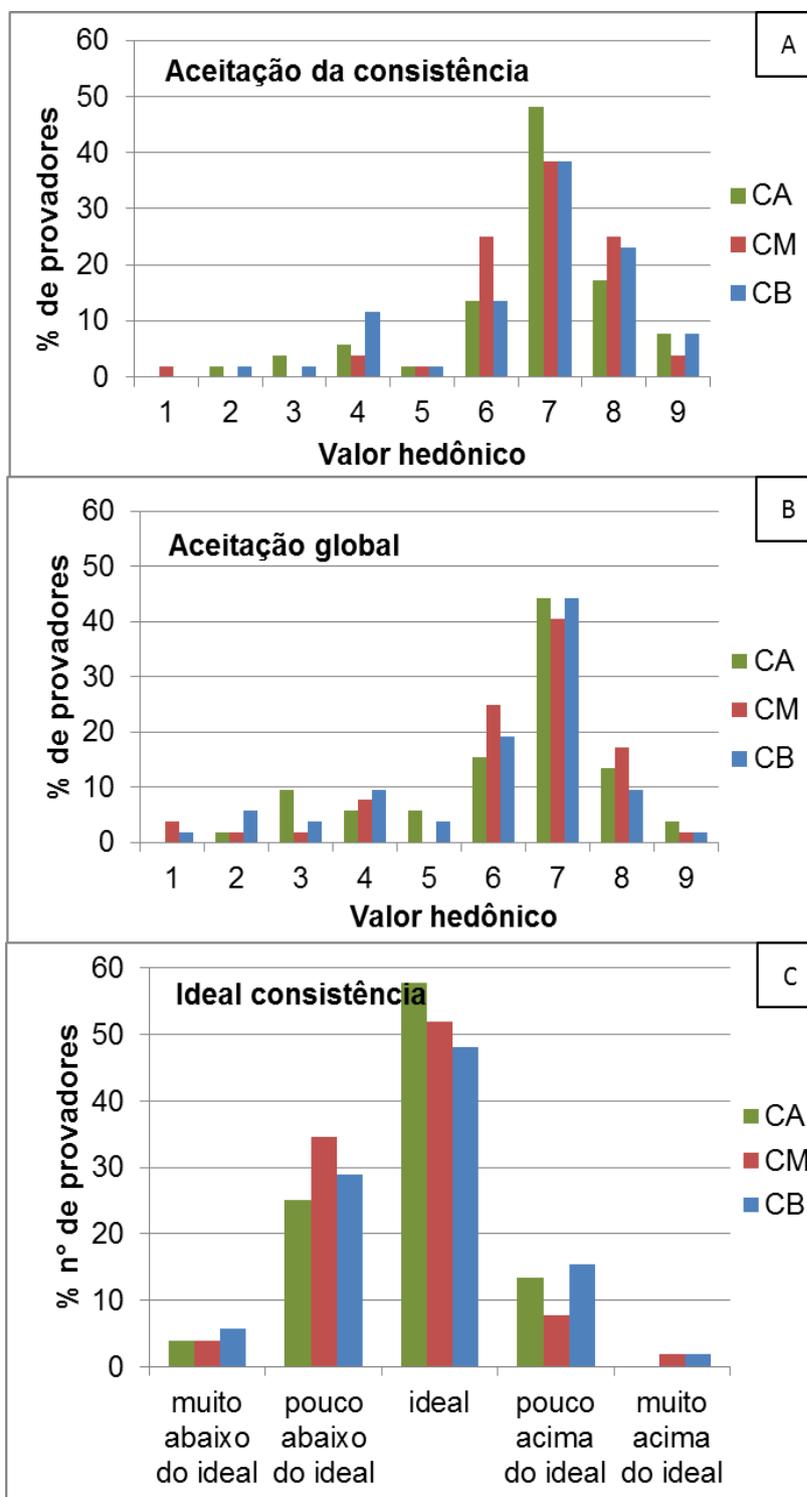
O fato das médias não terem apresentado diferença entre si ($p > 0,05$) pode significar que a redução da consistência obtida com os tratamentos de maceração enzimática do purê não foi suficientemente grande para constituir estímulos que provoquem respostas sensoriais de diferentes magnitudes, pois a

aceitação de produtos semelhantes é também semelhante. Por outro lado, os consumidores podem ter aceitado igualmente qualquer intensidade de consistência, dentro da faixa estudada.

Entretanto, os histogramas da distribuição de frequência dos valores atribuídos pelos provadores às amostras (Figuras 20A e 20B) revelaram algumas diferenças de aceitação entre elas (significativas pelo teste χ^2 a $\alpha=0,1$). Na Figura 20A pode-se observar que, para a aceitação da consistência, todas as amostras apresentaram moda 7, porém as amostras de média e baixa consistência (CM e CB) ficaram um pouco deslocadas para a região de maior aceitação da escala hedônica, apresentando maiores porcentagens de respostas na categoria 8, correspondente a “gostei muito”.

Quanto à intensidade da consistência (escala do ideal, Figura 20C), as distribuições de frequência não foram significativamente diferentes entre si ($\chi^2=0,47$), apresentando maior porcentagem de respostas na categoria “ideal” (48% a 58%). No entanto, cerca de 30% a 40% das respostas ainda ficaram abaixo do ideal (as duas categorias somadas), indicando que as médias de aceitação relativamente baixas foram influenciadas pelos consumidores que acharam que as amostras poderiam ser mais consistentes. Dessa forma concluímos que seria possível formular um produto com maior teor de polpa (purê macerado), aumentando a consistência.

Figura 20 - Histogramas de frequência das categorias da escala hedônica (A e B) e da escala do ideal atribuídas à consistência (C) para amostras de néctar de abóbora com 30% de purê macerado



CA = Consistência Alta (1500 ppm de Celluclast 1,5L, 500 ppm de Viscozyme L, 40°C/2 h);
 CM = Consistência Média (1500 ppm de Celluclast 1,5L, 500ppm de Viscozyme L, 50°C/2 h);
 CB = Consistência Baixa (1500 ppm de Celluclast 1,5L, 500 ppm de Viscozyme L, 40°C/4 h).

Foram então elaborados néctares de abóbora com 50% de purê macerado, com as amostras dos mesmos experimentos de maceração: exp. 2 (CA), exp. 10 (CM) e exp. 6 (CB), os quais foram submetidos aos mesmos testes sensoriais (Tabela 16). Apesar de obter maior teor de purê e, conseqüentemente, maior consistência, as amostras de néctar contendo 50% de purê de abóbora apresentaram o mesmo comportamento do néctar contendo 30% de purê de abóbora quanto à aceitação da consistência e aceitação global, atingindo médias correspondentes a “gostei” e “gostei pouco”, respectivamente, sem apresentar diferença significativa entre si. No entanto, as distribuições de frequência para aceitação de consistência, aceitação global e escala do ideal (Figura 21) apresentaram diferença entre as amostras ($\chi^2 < 0,05$). Para aceitação da consistência, as amostras CM e CB receberam maior porcentagem de respostas nas categorias 8 e 9 da escala hedônica que a amostra CA, mas a amostra de média consistência foi classificada como ideal por quase 60% dos julgadores, enquanto as amostras CB e CA ficaram com 50% e 40%, respectivamente.

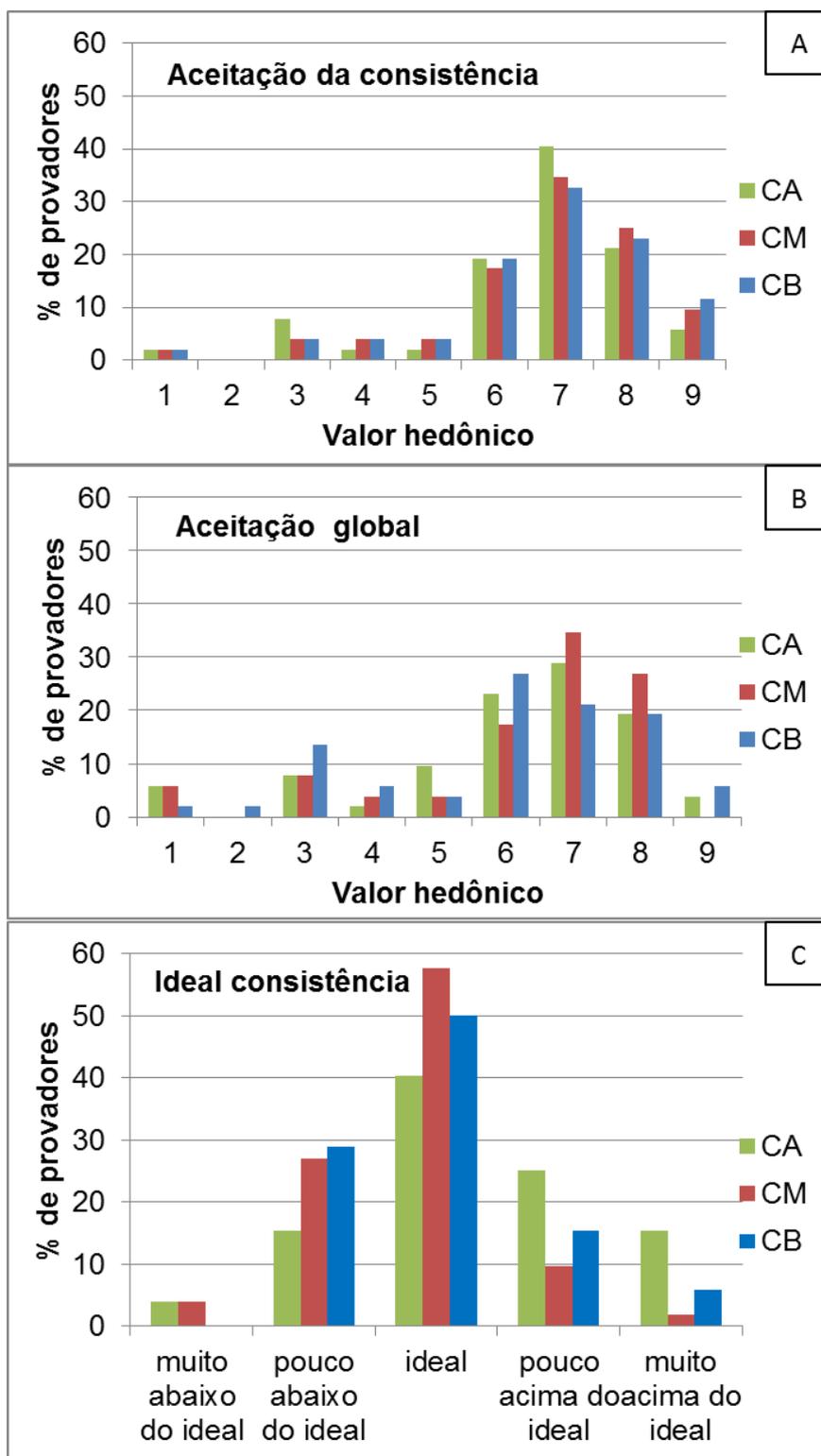
Tabela 16 - Médias dos testes de aceitação global e da consistência do néctar de abóbora com 50% de purê macerado

Amostra	Aceitação da Consistência	Aceitação Global
Alta (CA)	6,81 ^a	6,25a
Média (CM)	6,81 ^a	6,04a
Baixa (CB)	6,61 ^a	6,13a

Médias com mesma letra na coluna não diferem entre si a 5% de significância

A análise sensorial é uma etapa importante para a escolha das condições de maceração, podendo mudar as decisões feitas após análises dos efeitos. Pois, por mais que as preparações enzimáticas tenham um efeito positivo para fluidificação do purê, o consumidor não quer um néctar muito fluido. Então, baseado na resposta sensorial, a melhor seria a amostra CM, tratada nas seguintes condições: 1500 ppm de Celluclast 1,5L e 500 ppm de Viscozyme L a 50 °C por 2 horas.

Figura 21 - Histograma de frequência das categorias na escala hedônica (A e B) e escala do ideal atribuída à consistência (C), para amostras de néctar de abóbora com 50% de purê macerado.



CA = Consistência Alta (1500 ppm de Celluclast 1,5L, 500 ppm de Viscozyme L, 40°C/2 h);
 CM = Consistência Média (1500 ppm de Celluclast 1,5L, 500ppm de Viscozyme L, 50°C/2 h);
 CB = Consistência Baixa (1500 ppm de Celluclast 1,5L, 500 ppm de Viscozyme L, 40°C/4 h).

Como a preparação Viscozyme L utilizada em maiores concentrações aumenta muito a fluidez e na análise sensorial, em ensaios preliminares, mostrou-se deixar um sabor residual amargo quando usada em concentrações mais altas (4000 ppm), sua quantidade foi fixada a 500 ppm.

Esse sabor residual pode ser devido à liberação dos grupamentos ácidos e metanol, compostos liberados pela ação das enzimas pectinametilerases, que estão presentes na preparação Viscozyme L em maior quantidade que as outras preparações.

Para os provadores, dependendo da concentração de purê no néctar, se for na mais baixa (30%), a consistência do purê macerado tem que ser de média para alta. Em contrapartida, se for uma % de purê mais elevada (50%), a consistência tem que se de média para baixa.

A concentração de Celluclast 1,5L ficou em uma faixa intermediária, pois em concentrações menores a fluidez foi pequena e em concentrações mais altas teve muita fluidez. A temperatura foi mantida para favorecer a ação das enzimas celulasas e o tempo foi reduzido para reduzir o custo do processo.

Foi feito um novo planejamento, sendo que as variáveis foram somente a concentração de Celluclast 1,5L, tempo e temperatura.

5.3.3 Terceiro planejamento experimental utilizando as enzimas Celluclast 1,5 L e Viscozyme L, com redução do tempo:

Neste terceiro planejamento, foi fixada a concentração de Viscozyme L de 500 ppm, com variação na concentração de Celluclast 1,5 L (1000 a 1500 ppm), tempo (1 a 2 horas) e temperatura (40 a 50°C), totalizando 11 experimentos, sendo três repetições no ponto central ($2^3 + 3$ PC). É importante ressaltar que, baseado nos resultados obtidos no segundo planejamento estatístico, as faixas da concentração de Celluclast 1,5L e do tempo foram reduzidos, e a faixa da temperatura foi mantida. Como variável dependente, tem-se o Índice de fluidez (IF), que é o fator que expressa diretamente a consistência do produto, e consequentemente, influencia a resposta sensorial.

Como neste novo planejamento os valores do Índice de fluidez foram bastante reduzidos, foi necessário dividir a categoria de consistência em média (10,0

cm a 19,9 cm), alta (5,0 cm a 10,0 cm) e muito alta (< 5,0 cm) (Tabela 17). Observou-se que quanto maiores os valores das variáveis concentração de enzima Celluclast 1,5L, tempo e temperatura, maior o Índice de fluidez, ou seja, maior redução da consistência ou aumento da fluidez do purê.

Tabela 17 – Delineamento fatorial 2³ para o índice de fluidez (IF) do terceiro planejamento.

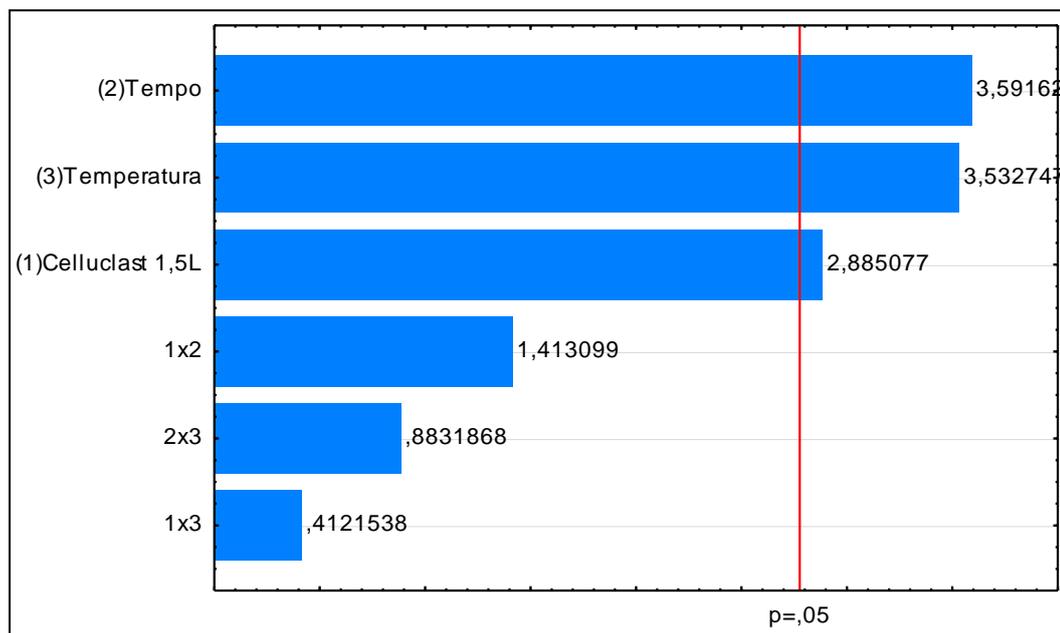
Ensaio	Celluclast (ppm)	Tempo (h)	Temperatura (°C)	IF ¹ (cm)	Categoria de Consistência ²
1	1000	1	40	2,0	Muito alta
2	1500	1	40	2,7	Muito alta
3	1000	2	40	2,9	Muito alta
4	1500	2	40	6,4	Alta
5	1000	1	50	3,7	Muito alta
6	1500	1	50	5,5	Alta
7	1000	2	50	6,5	Alta
8	1500	2	50	10,3	Média
9	1250	1,5	45	7,0	Alta
10	1250	1,5	45	6,7	Alta
11	1250	1,5	45	5,8	Alta

¹Índice de fluidez (IF): diferença entre a consistência da amostra no tempo inicial (não macerada) e ao final do tempo de maceração.

²categorias arbitradas de consistência: muito alta (< 5,0 cm), alta (5,1 cm a 10,0 cm); média (10,0 cm a 19,9 cm); baixa (\geq 20,0 cm). Quanto maior a consistência, menor é a fluidez. Quantidade de preparação enzimática Viscozyme L utilizada: 500 ppm.

Na Figura 22 é apresentada a estimativa dos efeitos do planejamento experimental com o gráfico dos efeitos padronizados. Todos os efeitos das variáveis estudadas foram significativos para o índice de fluidez (IF). O tempo foi a variável que mais se destacou seguida da temperatura e concentração de Celluclast 1,5L.

Figura 22 – Diagrama de Pareto dos efeitos padronizados para o índice de Fluidez (IF) do terceiro Planejamento



Assim como no “planejamento estatístico 2”, foram escolhidos três ensaios para a análise sensorial, representantes de cada categoria de consistência e que combinavam os valores mínimo, intermediário e máximo para as variáveis: concentração de enzima, tempo e temperatura. Nesta etapa do trabalho, as formulações selecionadas foram:

- Ensaio 1 para consistência muito alta (CMA);
- Ensaio ponto central (PC) para consistência Alta (CA);
- Ensaio 8 para consistência média (CM).

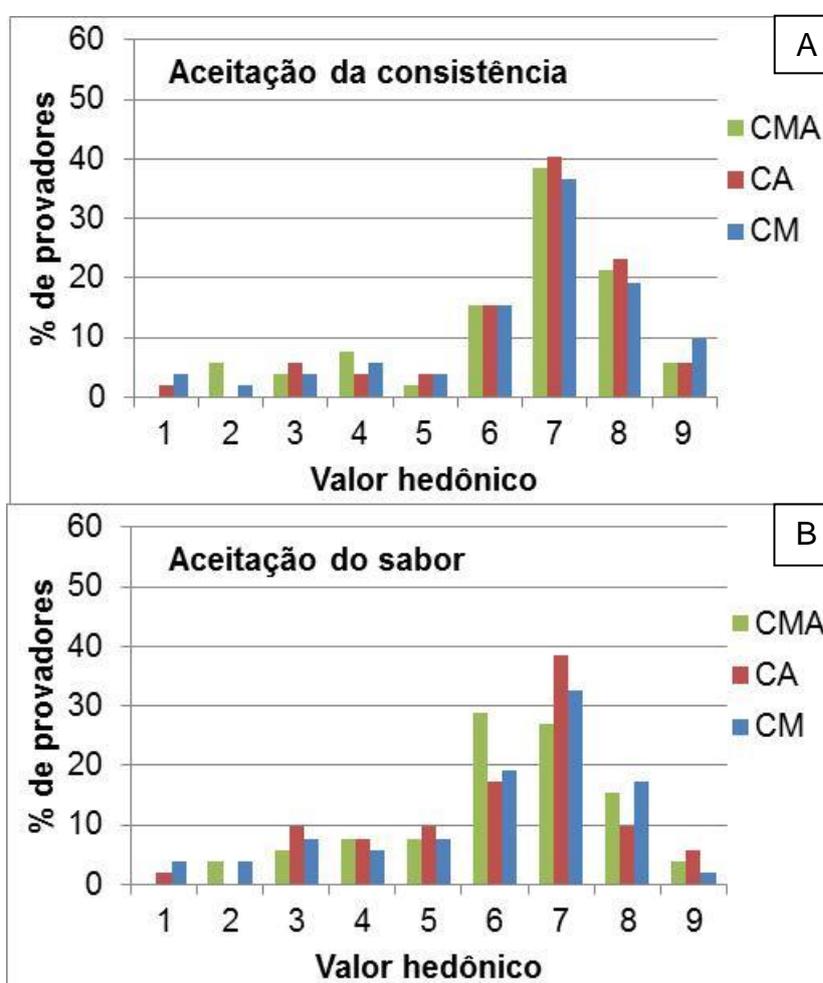
Foram elaboradas três amostras de suco de abóbora com 50% de purê macerado de acordo com as condições dos experimentos selecionados. Os testes aplicados foram Aceitação global, Aceitação do sabor, Aceitação da consistência e Escala do Ideal para consistência. Os resultados estão expressos nos histogramas das Figuras 23 e 24 e na Tabela 18.

Tabela 18 - Médias dos testes de aceitação da consistência, do sabor e global do néctar de abóbora com 50% de purê macerado.

Amostra	Aceitação da consistência	Aceitação do sabor	Aceitação global
Muito Alta (CMA)	6,5a	6,1a	6,1a
Alta (CA)	6,7a	6,2a	6,1a
Média (CM)	6,5a	6,2a	6,0a

Médias com mesma letra na coluna não diferem entre si a 5% de significância

Figura 23 – Histograma de frequência das categorias na escala hedônica dos testes aceitação da consistência (A) e aceitação do sabor (B)



CMA = Consistência muito alta (1000 ppm de Celluclast 1,5L, 40°C/1 h);

CA = Consistência alta (1250 ppm de Celluclast 1,5L, 45°C/1,5 h);

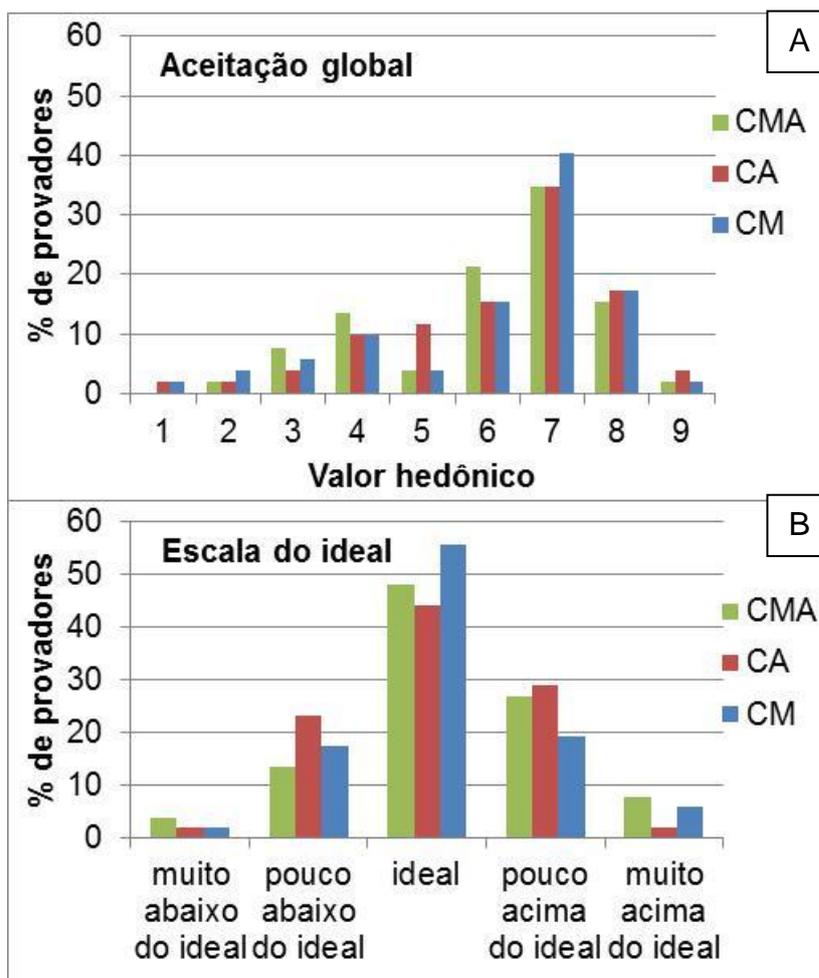
CM = Consistência média (1500 ppm de Celluclast 1,5L, 50°C/2 h);

Em todos foram utilizados 500 ppm de Viscozyme L.

Nos testes de aceitação do sabor e da aceitação da consistência, a amostra CA teve maior porcentagem de provadores que escolheram na escala hedônica nível 7 indicando que gostaram da amostra. Já na aceitação global os provadores indicaram que gostaram da amostra CM.

Quanto ao teste “Escala do Ideal de consistência”, a amostra CM teve maior porcentagem de provadores que escolheram como ideal. Já as amostras CA e CMA tiveram maiores % de provadores que as acharam pouco acima do ideal.

Figura 24 – Histograma de frequência das categorias na escala hedônica (A) e escala do ideal atribuído a consistência (B).



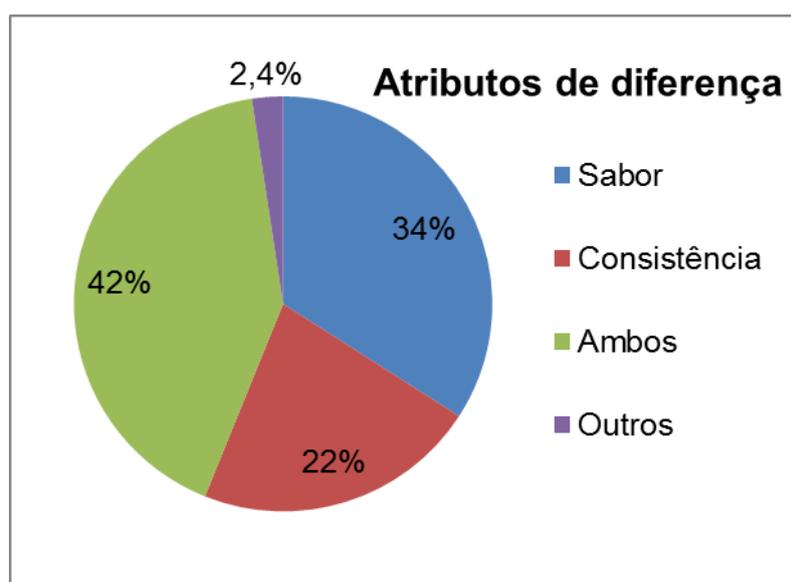
CMA = Consistência muito alta (1000 ppm de Celluclast 1,5L, 40°C/1 h);
 CA = Consistência alta (1250 ppm de Celluclast 1,5L, 45°C/1,5 h);
 CM = Consistência média (1500 ppm de Celluclast 1,5L, 50°C/2 h);
 Em todos foram utilizados 500 ppm de Viscozyme L.

Foram avaliadas duas amostras de sucos de abóbora de purês macerados com as seguintes condições:

- amostra CA – 1250 ppm de Celluclast 1,5L; 500 ppm de Viscozyme L; 1,5h; 45°C (Purê1)
- amostra CM - 1500 ppm de Celluclast 1,5L; 500 ppm de Viscozyme L; 2h; 50°C (Purê 2).

Os néctares formulados com 50% desses purês macerados (Néctar 1 e Néctar 2) foram submetidos a um teste sensorial de simples diferença e comparação pareada preferência. Observou-se que 82% dos julgadores disseram que as amostras são diferentes, sendo que 34% desses indivíduos responderam que eles eram diferentes somente quanto ao sabor, 22% quanto à consistência e 41,5% responderam que são diferentes tanto quanto ao sabor como quanto a consistência (Figura 25). Em relação à preferência, 68% dos julgadores escolheram o Néctar 1 como o mais preferido, o que foi significativo a $\alpha=0,01$ na tabela dos números mínimos de respostas corretas para o teste de comparação pareada monocaudal (MEILGAARD; CIVILLE; CARR, 2006).

Figura 25 – Perfil dos julgadores em relação aos atributos de diferença entre as amostras.



A condição de maceração que melhor contribuiu para fluidificação do purê de abóbora e que após testes sensoriais do néctar formulado com este purê mostrou ser a mais preferida pelo consumidor foi a utilização de 1250 ppm de Celluclast 1,5L, 500 ppm de Viscozyme L a 45°C por 1,5h. Para avaliar as etapas do processamento desse néctar foram feitas análises de compostos voláteis, carotenoides totais e polifenóis extraíveis totais nas amostras de abóbora in natura, purê macerado e não macerado e néctar.

5.4 AVALIAÇÃO DO EFEITO DAS ETAPAS DO PROCESSAMENTO DO NÉCTAR MACERADO NO PERFIL DOS COMPOSTOS VOLÁTEIS (SPME – CG)

Para determinar o efeito das etapas do processamento do néctar formulado com purê de abóbora macerado enzimaticamente no perfil de compostos voláteis, foi analisada a composição do headspace (HS-SPME) das seguintes amostras: abóbora in natura, purê diluído não macerado, purê diluído macerado e néctar de abóbora.

A identidade dos compostos voláteis identificados nas quatro amostras de abóbora e suas respectivas áreas dos picos cromatográficos está apresentada na Tabela 19.

Tabela 19 - Compostos voláteis detectados na abóbora in natura, purê de abóbora diluído não macerado, purê de abóbora diluído macerado e no néctar.

(continua)

Picos	IR	Composto	Área x 10 ⁶			
			In natura	Purê diluído		Néctar
				Não macerado	Macerado	
1	<700	acetato de etila	-	3,13	1,04	4,80
2	<700	(E)-2-butenal	1,58	-	-	-
3	<700	ácido acético	-	-	6,36	6,02
4	<700	3-metil-butanal	-	0,32	-	0,23
5	<700	2-metil-butanal	-	0,73	-	0,14
6	707	1-penten-3-ona	-	-	-	0,88
7	715	pentanal	-	25,54	0,05	11,21
8	747	2-metil-2-butenal	1,11	-	-	-
9	755	metil isobutil cetona	-	-	-	1,59
10	784	1-pentanol	-	2,47	-	-
11	813	hexanal	6,87	18,51	1,81	2,37
12	854	2-etil-3-metil-butanal	-	0,39	-	-
13	869	(E)-2-hexenal	3,09	-	-	-
14	879	1-hexanol	23,88	-	-	-
15	943	α-pineno	-	-	-	0,25
16	959	3,3-dimetil-hexanal	-	0,12	-	-
17	970	benzaldeído	2,81	-	-	1,06

Tabela 19 - Compostos voláteis detectados na abóbora in natura, purê de abóbora diluído não macerado, purê de abóbora diluído macerado e no néctar.

(conclusão)

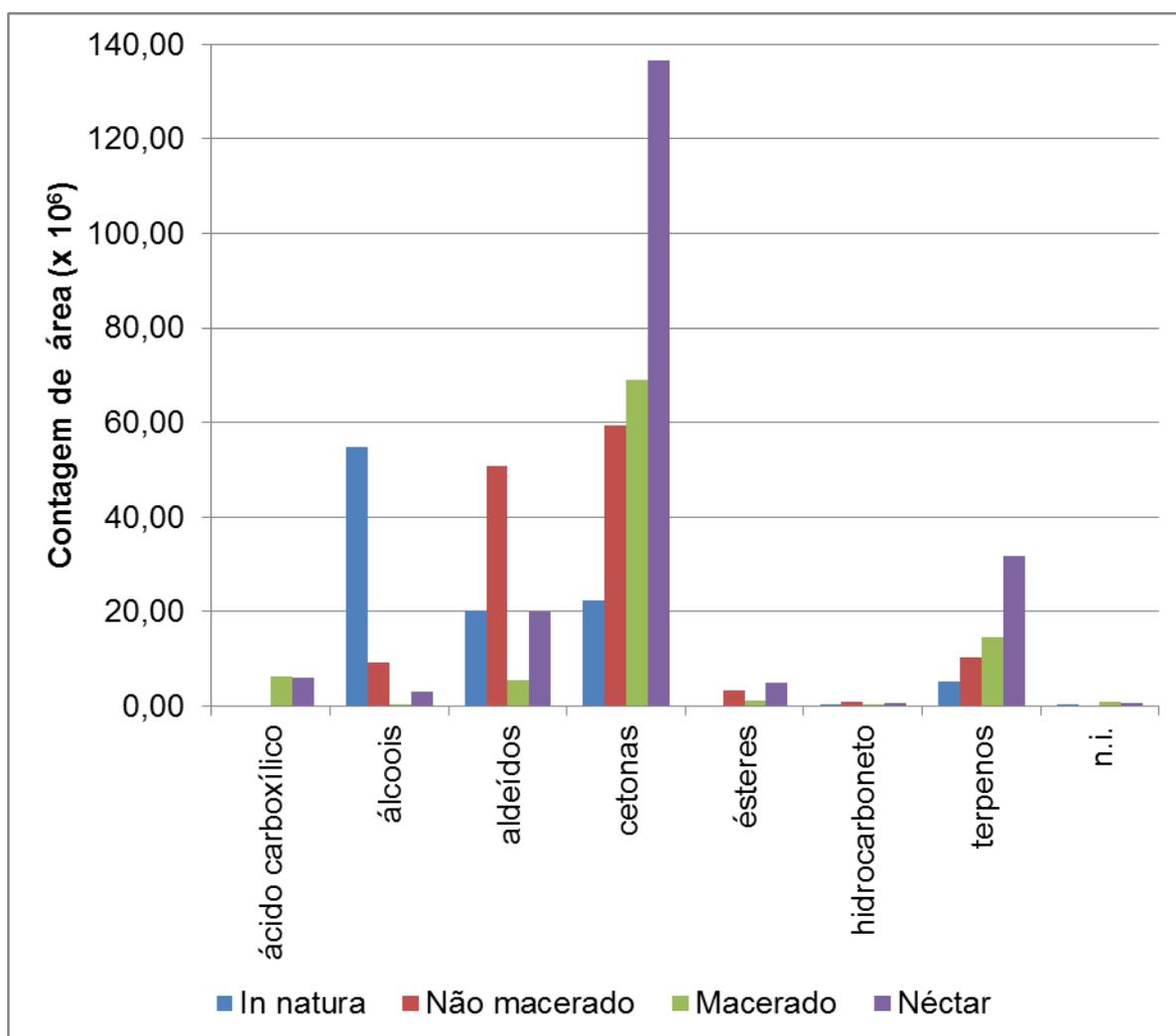
Picos	IR	Composto	Área x 10 ⁶			
			In natura	Purê diluído		Néctar
				Não macerado	Macerado	
18	975	2-metilpropanoato de (Z)-3-hexenila	-	0,15	-	-
19	978	(E) -2-hepten-1-ol	2,03	-	-	-
20	983	1-octen-3-ol	23,06	-	-	-
21	994	6-metil-5-hepten-2-ona	9,36	9,25	6,32	9,48
22	999	3-octanol	1,92	-	-	-
23	1007	2-etil hexenal + octanal	1,87	-	-	-
24	1011	Etil hexanoato + octanal	-	0,35	0,65	0,91
25	1037	2-etil-1-hexanol	0,05	4,89	-	-
26	1041	limoneno	-	-	2,31	4,18
27	1045	2,2,6-trimetil-ciclo-hexanona	0,78	0,68	0,06	0,12
28	1063	2,4,4-trimetil-2-ciclohexenol	0,34	0,87	0,35	1,16
29	1069	α-isoforona	0,08	0,65	0,31	0,62
30	1076	1-octanol	0,47	-	-	-
31	1084	1,2-dimetil-1-ciclo-octeno	0,44	0,81	0,12	0,65
32	1090	β-isoforona	0,16	0,84	0,45	0,90
33	1112	β-linalol	-	0,92	0,58	1,45
34	1115	nonanal	2,31	2,43	1,39	1,48
35	1120	3,4-dimetil-ciclo-hexanol	0,58	0,92	-	1,81
36	1160	4-oxoisophorone	-	0,73	0,05	0,31
37	1168	lilac aldeído C	0,66	1,88	1,02	2,02
38	1175	1-nonanol	2,39	-	-	-
39	1218	decanal	-	0,55	0,48	0,51
40	1228	β-ciclocitral	1,52	2,86	3,14	5,28
41	1242	n.i.	0,26	-	-	0,27
42	1429	α-ionona	1,85	3,47	4,49	10,41
43	1459	geranil acetona	11,97	47,14	61,57	122,11
44	1487	β-ionona	1,94	2,96	4,02	10,10
45	1703	n.i.	-	-	0,89	0,42
46	1922	farnesil acetona	0,06	-	0,30	0,48

IR: Índice de Retenção encontrado na base de dados NIST -02 e na literatura especializada.
n.i.: Não identificado.

O uso da cromatografia gasosa–espectrometria de massas (GC-MS) permitiu a detecção de 46 compostos no *headspace* dos quais apenas 2 não foram identificados. Dos 44 compostos voláteis identificados, 15 eram aldeídos, caracterizando-se como a principal classe química, seguidos de 10 álcoois, 9 cetonas, 6 terpenos, 2 ésteres, 1 ácido carboxílico e 1 hidrocarboneto. O composto majoritário foi o geranyl acetona.

A Figura 26 mostra as áreas totais obtidas, através da análise cromatográfica, das quatro amostras de abóbora. A amostra in natura apresentou maiores teores de álcoois, enquanto que a amostra de purê não macerado apresentou maiores teores de cetonas e aldeídos, e as amostras de purê macerado e de néctar apresentaram uma elevada abundância de compostos cetona.

Figura 26 – Área total de compostos voláteis encontrados em cada classe química para as diferentes amostras de abóbora.



Pires *et al.* (2013) identificaram em cultivares de abóboras in natura, através da técnica de microextração em fase sólida (SPME) em cromatógrafo gasoso acoplado ao espectrofotômetro de massas, classes de compostos terpênicos, álcoois, aldeídos, ésteres e outros hidrocarbonetos, tendo como constituinte majoritário o (Z)- β -nerolidol.

Kebede *et al.* (2014) encontraram em abóbora processada um perfil volátil característico, composto de aldeídos, cetonas, álcoois, derivados de furano, compostos contendo enxofre e os compostos de N-hetero-cíclicos. A formação desses compostos voláteis está principalmente associada a reações químicas, tais como a degradação dos carotenoides, degradação de lipídios e a reação de Maillard. De acordo com os mesmos autores, a degradação térmica induzida de carotenoides conduz à formação de compostos tais como 2-hidroxi-2, 6,6-trimetilciclohexanona, 2,6,6-trimetilciclohexanona, 2-hidroxi-2,6,6-trimetilciclohexano-1-carboxaldeído e 2,6,6-trimetil-2-ciclo-hexen-1-ona.

Segundo Sandi *et al.* (2003), a etapa de tratamento térmico é considerada uma operação que causa as maiores alterações no sabor de sucos de frutas, podendo causar modificações nos constituintes voláteis do suco provocando alterações na qualidade sensorial do produto final.

Os dados obtidos da composição de voláteis das diferentes amostras foram analisados por Análise de Componentes Principais (ACP), com a finalidade de se determinar a contribuição dos compostos voláteis para discriminar as amostras (Figura 27). As duas primeiras componentes principais (F1 e F2) foram capazes de explicar 83,18% da variabilidade dos dados originais. Essa Figura apresenta o gráfico biplot das variáveis e das observações, onde cada composto volátil é representado por um vetor, aqui indicado apenas pelo ponto onde ele termina. Amostras localizadas na mesma região do gráfico apresentam perfis de voláteis semelhantes entre si e ficam próximas aos vetores (variáveis) que as caracterizam.

A primeira componente discriminou claramente a amostra in natura das demais, a qual foi caracterizada pelos compostos localizados no lado esquerdo do gráfico, principalmente os aldeídos (E)-2-butenal (p2), 2-metil-2-butenal (p8), (E)-2-hexenal (p13), benzaldeído (p17) e os álcoois 1-hexanol (p14), (E)-2-hepten-1-ol (p19), 1-octen-3-ol (p20), 3-octanol (p22), 1-octanol (p30) e 1-nonanol (p38), os

quais não foram detectados nas outras amostras, sendo totalmente perdidos com o cozimento da abóbora para obtenção do purê.

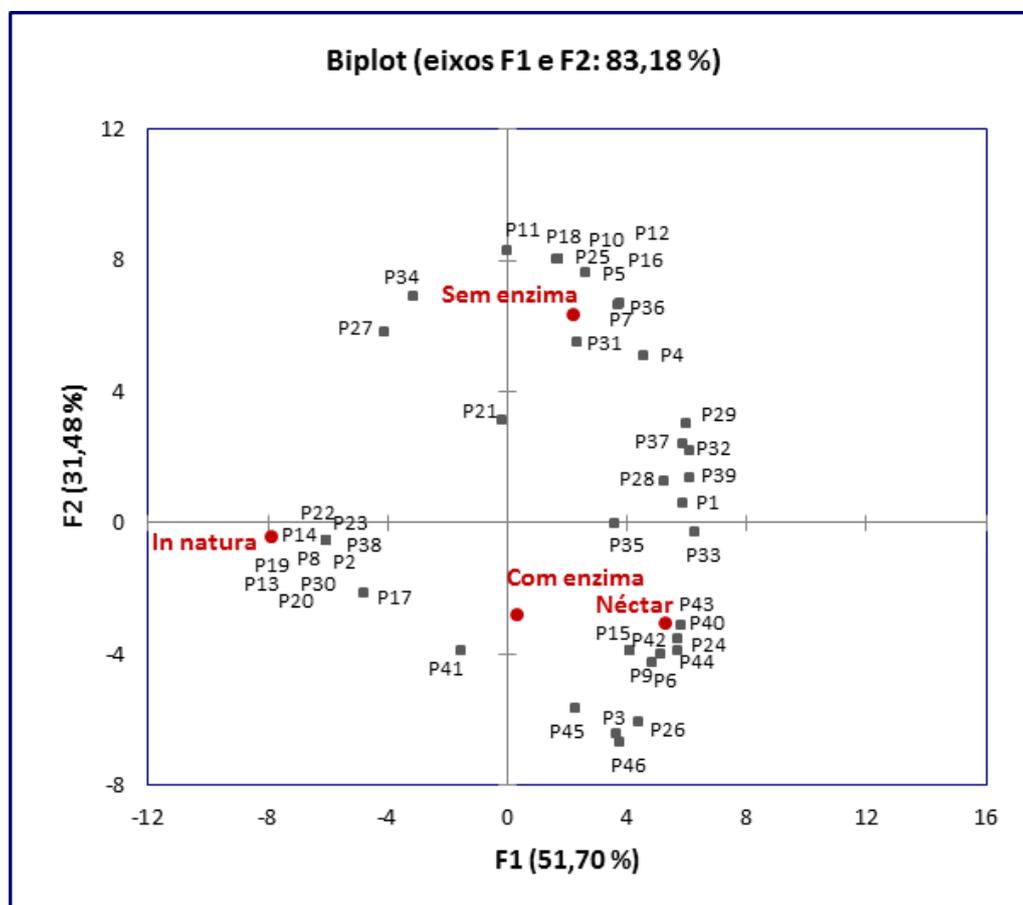
Por sua vez, o purê ficou localizado em região diametralmente oposta à da abóbora in natura, mostrando que o seu perfil de voláteis é ao contrário, ou seja, além dos compostos que estavam na abóbora não estarem mais no purê, esta amostra apresentou compostos voláteis que não estavam originalmente na matéria-prima, como é o caso dos aldeídos 2-metil-butanal (p5), pentanal (p7), hexanal (p11), 2-etil-3-metil-butanal (p12); os álcoois 1-pentanol (p10), 2-etil-1-hexanol (p25); o éster 2-metilpropanoato de (Z)-3-hexenila (p18) e a 4-oxoisophorone (p36).

A segunda componente (F2), diferenciou as duas amostras de purê, mostrando o efeito da maceração enzimática: liberação de ácido acético e limoneno e o aumento do éster hexanoato de etila (p24), do composto majoritário geranyl cetona (p43) e dos terpenos β -ciclocitral (p40), α -ionona (p42), β -ionona (p44) que são biossintetizados a partir da degradação de carotenoides.

Em geral, três passos são necessários para se gerar um composto de aroma a partir de um carotenóide: clivagem inicial por dioxigenase; subsequente transformação enzimática dos produtos iniciais de clivagem gerando intermediários polares (precursores de aromas) e conversão catalisada por ácidos de precursores não voláteis na forma ativa dos compostos de aroma. O β -caroteno também pode ser convertido a β -ionona por meio de clivagem. Trata-se de um composto volátil derivado de carotenoides, que, nas plantas, contribui para afastar fungos e herbívoros e atrair agentes polinizadores. β -ionona e β -ciclocitral são produtos da degradação oxidativa de β -caroteno. Os compostos de aroma advindos da degradação enzimática e fotoxidação de carotenoides possuem em geral 9, 10, 11 e 13 carbonos, sendo essenciais para o perfil de aroma dos vegetais nos quais estão presentes (UENOJO; MARÓSTICA JR.; PASTORE, 2007).

No gráfico, as amostras do purê macerado enzimaticamente e do néctar ficaram muito próximas entre si, mostrando que essas amostras apresentaram perfis de voláteis semelhantes. Apesar de o néctar ser formulado a partir da diluição do purê macerado houve um aumento na quantidade de vários compostos voláteis, principalmente do composto majoritário geranyl cetona e dos terpenos derivados da degradação de carotenoides, além dos terpenos limoneno (p26) e β -linalol (p33), além da formação da metilisobutil cetona (p9) e do α -pineno.

Figura 27 - Gráfico dos componentes principais da ACP dos compostos voláteis das amostras de abóbora in natura, purê não macerado, purê macerado enzimaticamente e do néctar com purê macerado.



Parliment *et al.* (1981) afirmaram que a característica mais marcante dos voláteis das abóboras consiste nos compostos de nove carbonos. Dentre estes compostos encontram-se o nonenol, nonanol, nonanal, nonadienol, nonenal e nonadienal. Nas amostras de abóbora em estudo foram identificados os compostos nonanal e 1-nonanol.

O composto 1-nonanol foi identificado somente na abóbora in natura. O processo de obtenção do purê de abóbora, principalmente a etapa de cocção, pode ter ocasionado a perda deste composto, assim não sendo possível quantificá-lo nas outras amostras testadas.

O nonanal foi quantificado nas quatro amostras analisadas, sendo que na abóbora in natura e no purê não macerado tiveram valores semelhantes, mostrando que a cocção para obtenção do purê conservou esse composto. Já as amostras de

purê macerado e néctar apresentaram valores semelhantes, porém menores que os das outras duas amostras (in natura e purê não macerado). No processo de maceração, devido ao tempo agitação no shaker pode ter ocasionado essa redução.

5.5 AVALIAÇÃO DO EFEITO DAS ETAPAS DO PROCESSAMENTO DO NÉCTAR MACERADO NOS TEORES DE CAROTENOIDES TOTAIS E POLIFENÓIS EXTRAÍVEIS TOTAIS (PET)

5.5.1 Carotenoides totais

A abóbora in natura, assim como o purê e o suco, são ricos em carotenoides ($46,57-93,31 \mu\text{g.g}^{-1}$), representando uma fonte apreciável destes pigmentos, pois fontes ricas como o mamão ($24,67 \mu\text{g.g}^{-1}$) e cajá ($26,46 \mu\text{g.g}^{-1}$) (CARVALHO, *et al.*, 2011), a goiaba ($42,98 \mu\text{g.g}^{-1}$) (MELO *et al.*, 2006) e a manga ($4,4 \text{ mg.}100\text{g}^{-1}$) (FARAONI *et al.*, 2009), apresentam teores menores que os encontrados neste estudo (Tabela 20). Isso faz da abóbora uma fonte relevante destes importantes compostos, justificando ainda mais o incentivo ao consumo de novos produtos a base dessa hortaliça, possibilitando um maior aproveitamento de seu potencial.

Tabela 20 – Resultado da análise de carotenoides totais

	Carotenoides totais ($\mu\text{g/g}$)	Proporção da quantidade de abóbora (%)
Abóbora in natura	$93,31 \pm 0,09\text{a}$	100
Purê diluído não macerado	$77,10 \pm 0,33\text{b}$	67
Purê diluído e macerado enzimaticamente	$73,87 \pm 0,78\text{c}$	67
Néctar	$46,57 \pm 0,17\text{d}$	50

Purê diluído: razão purê:água, 2:1.

Valores seguidos da mesma letra nas colunas não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

Na abóbora in natura foi quantificado $93,31 \mu\text{g.g}^{-1}$, pode-se observar que quando se fez a diluição do purê e com a maceração, mesmo utilizando uma temperatura de $45 \text{ }^\circ\text{C}$, pouco influenciou na degradação dos carotenoides. O efeito pode ter sido apenas pela adição de água ao purê.

Quanto ao néctar que teve uma diluição de 50%, pode-se observar que não teve nenhum efeito do tratamento térmico, pois a quantidade de carotenoides obtidos é semelhante à metade encontrada na abóbora in natura.

Os valores obtidos para os teores de carotenoides totais na abóbora in natura estão dentro do intervalo encontrado no estudo relatado por Moura (2003), para acessos de *C. moschata* cultivados em Viçosa - MG ($18\text{-}250 \mu\text{g g}^{-1}$) e Souza *et al.* (2012) para acessos cultivados em Juazeiro – BA ($12\text{-}290 \mu\text{g g}^{-1}$).

Provesi *et al.* (2011) encontraram concentrações de carotenoides totais em purês de abóbora *Cucurbita moschata* “Menina Brasileira” e *Cucurbita moschata* “Exposição” de $37,72 \mu\text{g g}^{-1}$ e $12,09 \mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente.

Em uma amostragem de 48 acessos de abóbora analisados, Souza *et al.* (2012) encontraram valores para carotenoides totais que variaram de 11,81 a $112,20 \mu\text{g g}^{-1}$. Estando os valores encontrados neste estudo dentro do intervalo.

Carvalho; Peixoto e Ferreira (2011) caracterizaram variedades de abóboras de diferentes origens para os teores de carotenoides totais e encontraram valores variando de 13,78 a $250,68 \mu\text{g g}^{-1}$.

Muntean (2005) encontrou em suco de abóbora in natura uma concentração de $12,45 \mu\text{g g}^{-1}$ de carotenoides, após a esterilização ($105^\circ\text{C}/20$ minutos) houve uma redução para $4,15 \mu\text{g g}^{-1}$ e após sete meses de armazenamento reduziu para $2,72 \mu\text{g g}^{-1}$. O mesmo autor comenta que a maioria dos carotenoides quantificados possuem baixa estabilidade e foram destruídos logo no início do processamento. Sendo o β -caroteno o mais estável. Conclui que o suco de abóbora, dentre outros sucos, pode ser considerado uma fonte valiosa de carotenoides e como um possível agente de coloração alimentar.

5.5.2 Polifenóis extraíveis totais

Na abóbora in natura foi quantificado $12,05 \text{ mg}/100\text{g}$ de polifenóis extraíveis totais (Tabela 21). Observa-se que no purê diluído houve uma redução desses compostos, provavelmente por causa da adição de água ao purê.

No purê diluído macerado a diferença foi menor quando comparada com a amostra in natura. O que pode ter ocorrido, é que quando foram adicionadas as enzimas houve uma desintegração das fibras, facilitando assim, uma maior extração.

A quantidade encontrada no néctar foi praticamente a metade encontrada na abóbora in natura, visto que sua diluição foi de 50%.

Tabela 21 – Resultado da análise de polifenóis extraíveis totais (PET).

	PET (mg/100g)	Proporção da quantidade de abóbora (%)
Abóbora in natura	12,05 ± 1,31a	100
Purê diluído não macerado	8,65 ± 0,48b	67
Purê diluído e macerado enzimaticamente	10,77 ± 0,78c	67
Néctar	6,40 ± 0,20d	50

Purê diluído: razão purê:água, 2:1.

Valores seguidos da mesma letra nas colunas não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

Os polifenóis extraíveis compreendem compostos com peso molecular baixo, solúvel em solventes orgânicos aquosos (metanol, acetona, etanol, acetato de etila, etc.), incluindo os flavonoides (flavanol, antocianinas, flavonóis e outros subgrupos), ácidos benzóicos e hidroxicinâmico, estilbenos, proantocianidinas extraíveis, taninos hidrolisáveis, e outros (SAURA-CALIXTO, 2012).

Segundo Padayache *et al.* (2013), para que os polifenóis, localizados no vacúolo, tornem bioacessíveis nas células é necessário que a parede celular da planta, primeiramente, seja rompida. Pesquisa realizada por Padayache *et al.* (2012), relata que existem interações das antocianinas e os ácidos fenólicos com a parede celular da planta, sendo comprovada a ocorrência de interações de polifenóis com celulose, no entanto, os autores relatam que também são possíveis interações de antocianinas e ácidos fenólicos com a pectina.

Amariz *et al.* (2012) quantificaram os teores de polifenóis extraíveis totais (PET), carotenoides totais (CT) presentes em frutos de acessos de abóbora (*Cucurbita moschata*) pertencentes ao Banco Ativo de Germoplasma de Cucurbitáceas da Embrapa Semiárido. Encontrando um intervalo variando de 32,00 a 53,33 mg.100⁻¹g de PET e 3,00 a 6,67 mg.100⁻¹g de CT.

6 CONCLUSÃO

Foi possível estabelecer uma rota tecnológica baseada em maceração enzimática que leva a obtenção de um suco fluido de abóbora pronto para o consumo com preservação de seus atributos sensoriais, compostos voláteis e funcionais, baseada em carotenóides e polifenóis.

REFERÊNCIAS

AMARIZ, A.; LIMA, M. A. C. de; BORGES, R. M. e; BELÉM, S. F.; PASSOS, M. C. L. M. S; TRINDADE, D. C. G da; RIBEIRO, T. P.; Caracterização da qualidade comercial e teor de carotenoides em acessos de abóbora. **Horticultura Brasileira**, v.27, n.2, 2009.

AMARIZ, A.; LIMA, M. A. C. de; NUNES, E. D.; BORGES, R. M. E.; ALVES, R. E.; Quantificação de compostos bioativos em frutos de acessos de *Cucurbita moschata*. **Horticultura Brasileira**. v.30, n.2, julho 2012.

AMARIZ, A.; **Qualidade, compostos bioativos e atividade antioxidante de frutos de acessos de jerimum de leite (*Cucurbita moschata*) pertencentes ao banco ativo de germoplasma de cucurbitáceas da Embrapa semiárido**. 134p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia); Universidade Federal Rural do Semiárido, Mossoró-RN, 2011.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada–RDC nº 54, de 07 de outubro de 2014. Dispõe sobre o Regulamento Técnico sobre enzimas e preparações enzimáticas para uso na produção de alimentos em geral. [acesso 23 fevereiro 2015]. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br>

AOAC. Association Of Official Analytical Chemists. (2005), **Official Methods of Analysis of AOAC International**,.18. ed. Gaithersburg: AOAC.

AQUINO, A. C. DE; LIMA, C. DE S.; FEITOSA, F. X.; GALLÃO, M. I.; PINTO, G. A. S.; SANT'ANA, H. B. DE; Chromatographic, rheological and cytochemistry evaluation of “bacuri” pulp (*Platonia insignis* MART.) **Boletim CEPPA**, v.32, n.1, p.33-46, 2014.

AQUINO, A. C. de; **Eficiência da maceração enzimática da polpa de bacuri (*Platonia insignis* Mart.)**. 2008. 115p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal do Ceará, Fortaleza - Ceará. 2008.

_____. **Estudo da Ampliação da Escala na Produção de Néctar de Bacuri (*Platonia insignis* Martius) com Aplicação de Preparações Enzimáticas Comerciais**. 181p. Tese (Doutorado em Engenharia Química); Universidade Federal do Ceará, Fortaleza – Ceará, 2012.

ARAÚJO, E.R.; DO RÊGO, E. R.; SAPUCAY, M. J. L. DA C.; RÊGO M. M. DO; DOS SANTOS R. M. C.; Elaboração e análise sensorial de geléia de pimenta com abacaxi. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.14, n.3, p.233-238, 2012.

ARIMA HK, RODRÍGUEZ-AMAYA D. B. Carotenoid composition and vitamin A value of a squash and a pumpkin from northeastern Brazil. **Arch Latinoam Nutr**. n.40, v.2, p.284-292, 1990.

BARBIERI, Rosa Lía; **A diversidade de abóboras no Brasil e sua relação histórica com a cultura.** Disponível em:

<<http://www.slowfoodbrasil.com/textos/alimentacao-e-cultura/501-aboboras-e-cultura>>. Acesso em: 31 jul 2015.

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**. v.29, p.113-123, 2006.

BARROS, S. T. D. de; **Clarificação dos sucos de acerola e abacaxi por ultrafiltração: Modelagem e Simulação do Fluxo de Permeado e Determinação dos Mecanismos de Fouling**, 2002. 239p. Tese (Doutorado em Engenharia Química)–DTP/Unicamp, Campinas, 2002.

BASTOS, M.S.R.; GURGEL, T.E.P.; FILHO, M.S.M.S.; LIMA, I.F.B.; SOUZA, A.C.R.; SILVA, J.B. Efeito da aplicação de enzimas pectinolíticas no rendimento da extração de polpa de cupuaçu. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.24, n.1, p.240-242, 2002.

BELÉM, S. F.; LIMA, M. A. C. DE; BORGES, R. M. E.; COSTA, A. C. S.; SANTOS, A. C. N. DOS; ANTÃO, T. DOS S.; Caracterização da qualidade pós-colheita de frutos de acessos de Cucurbita spp. In: **JORNADA DE INIC. CIENT. DA EMBRAPA SEMI-ÁRIDO**, 3., 2008, Petrolina. Anais... Petrolina: Embrapa Semi-Árido, 2008. p. 189-194. Documentos, 210, 2008.

BENLLOCH-TINOCO, M.; VARELA, P.; SALVADOR, A.; MARTÍNEZ-NAVARRETE, N.; Effects of Microwave Heating on Sensory Characteristics of Kiwifruit Puree. **Food Bioprocess Technol**, v.5, p.3021-3031, 2012

BERGER, R.G. **Flavours and fragrances: chemistry, bioprocessing and sustainability**. Springer, 2007. 648 páginas.

BERNFELD, P. Amylases, α and β . **Methods in Enzymology**, v. 1, p. 149-157, 1955.

BHAT, M.K. Cellulases and related enzymes in biotechnology. **Biotechnology Advances**. v.18, p.355-383, 2000.

BINOTI, M. L.; **Aplicação de campo elétrico pulsado de moderada intensidade na qualidade funcional de abóbora**. 199p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), UFV, Viçosa - Minas Gerais, 2012.

BORGES, R.M.E.; RESENDE, G.M.; LIMA, M.A.C.; DIAS, R. DE C. DE S. **Caracterização e avaliação morfo-agronômica em abóboras visando à identificação de genótipos com alto teor de carotenóides totais e resistentes à mosca branca para cultivo no semi-árido brasileiro**. Projeto de pesquisa. 25 p. 2007.

BOTONDI, R.; DESANTIS, D.; BELLICONTRO, A.; VIZOVITIS, K.; MENCARELLI, F. Influence of ethylene inhibition by 1-methylcyclopropene on apricot quality, volatile

production, and glycosidase activity of low- and high-aroma varieties of apricots. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**.v.51, p.1189–1200, 2003.

BOURNE, M. C., **Food texture and viscosity: concept and measurement**. New York: Academic Press, p.213, 2002.

_____. **Food texture and viscosity: Concept and measurement.**: Academic Press, New York. 325p.,1982.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Lei nº 8918 de 14 de julho de 1994. **Diário Oficial da República**. República Federativa do Brasil, 14 de julho, Brasília, 1994.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento [Internet]. Instrução normativa nº 12, de 4 de setembro de 2003. **Regulamento técnico geral para fixação de identificação e qualidade gerais para suco tropical**. [acesso 19 fevereiro 2015]. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br>.

BRITO, B.; RODRIGUEZ, M.; SAMANIEGO, I.; JARAMILLO, M. I.; F., VAILLANT; Characterising polysaccharides in cherimoya (*Annona cherimola* Mill.) puree and their enzymatic liquefaction. **Eur Food Res Technol**.v.226, ed.3, p.355–361, 2008.

BUCKERIDGE, M. S.; SANTOS, W. D. dos; SOUZA, A. P. As rotas para o etanol celulósico no brasil. In: CORTEZ, L. A. B. (Coord.). Bioetanol de cana-de-açúcar: **P&D para produtividade e sustentabilidade**. São Paulo: Editora Blucher; p.365-380, 2010.

CAILI, F., HUAN, S.; QUANHONG, L.A Review on Pharmacological Activities and Utilization Technologies of Pumpkin. **Plant Foods for Human Nutrition**v.61, p.73–80, 2006.

CAMARGO, G. A.; CONSOLI, L.; LELLIS, I. C. S.; MIELI, J.; SASSAKI, E. K.; Bebidas naturais de frutas: Perspectivas de mercado, componentes funcionais e nutricionais. **BioEng**, Campinas, v.1, n.2, p.180-205, mai/ago., 2007.

CAMPOS, F. M. ; MARTINO, H. S. D.; SABARENSE, C. M.; PINHEIRO-SANT'ANA, H. M.; Estabilidade de compostos antioxidantes em hortaliças processadas: uma revisão. **Alim. Nutr.**, v.19, n.4, p.481-490, 2008.

CARDOSO; M. H.; JACKIX, M. N..H.; MENEZES, H. C.; GONÇALVES, E. B.; MARQUES, S. V.B. Efeito da associação de pectinase, invertase e glicose isomerase na qualidade do suco de banana. In: **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v.18, n.3. Campinas, Ago.-Out., 1998.

CARVALHO, A. V.; MATTIETTO, R. A.; ASSIS, G. T.; LOURENCO, L. F.H. Avaliação do efeito da combinação de pectina, gelatina e alginato de sódio sobre as características de gel de fruta estruturada a partir de “mix” de polpa de cajá e mamão, por meio da metodologia de superfície de resposta. **Acta Amazônica**, v.41, n.2, p.267-274, 2011.

CARVALHO, P. G. B. de; MACHADO, C. M. M.; MORETTI, C. L.; FONSECA, M. E. de N.; Hortaliças como alimentos funcionais. **Horticultura Brasileira**. v.24, n.4, p. 397-404, 2006.

CARVALHO, P. G. B. de; PEIXOTO, A. A. P.; FERREIRA, M. A. J. da F.; Caracterização de abóboras quanto aos teores de carotenóides totais, alfa- e beta-caroteno. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento/Embrapa Hortaliças**. Brasília, DF, ISSN 1677-2229; 78; 20 p.;Dezembro, 2011.

CARVALHO, S.; **Pectinases produzidas pelo agente biológico “G088”: Extração e purificação**. 2007. 100p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – UFL, Lavras, MG, 2007.

CBNA. Portal dia de campo. **Mercado global de enzimas movimentada US\$3,74 bilhões até 2015**; Disponível em:

<http://www.diadecampo.com.br/zpublisher/materias/Materia.asp?id=25353&secao=A> grotemas, Acesso em: 04 de ago. 2015.

CECI, L.; LOZANO, J. Determination of enzymatic activities of commercial pectinases for the clarification of apple juice. **Food Chemistry**, v.61(1), p.237-241, 1998.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças : fisiologia e manuseio**. 2. ed. rev. amp. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 783 p., 2005.

CILLA, A.; GONZÁLEZ-SARRÍAS, A.; TOMÁS-BARBERÁN, F. A.; ESPÍN, J. C.; BARBERÁ, R.; Availability of polyphenols in fruit beverages subjected to in vitro gastrointestinal digestion and their effects on proliferation, cell-cycle and apoptosis in human colon cancer Caco-2 cells. **Food Chemistry**. v.114, p. 813–820, 2009.

CODEVASF-Projeto integrado de negócios sustentáveis – PINS: cadeia produtiva de vegetais semi-processados/(PENSA).- Brasília, DF: CODEVASF, 33 p.; 2008.

CONTADOR, R.; GONZÁLEZ-CEBRINO, F.; GARCÍA-PARRA, J.; LOZANO, M; RAMÍREZ, R. Effect of hydrostatic high pressure and thermal treatments on two types of pumpkin purée and changes during refrigerated storage. **Journal of Food Processing and Preservation** v. 38, p.704–712, 2014.

CORREIA, A. A. S. **Maceração enzimática da polpa de noni (*Moringa citrifolia* L.)**.2010. 105p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal do Ceará, Fortaleza - Ceará. 2010.

CORREIA, L. F. M.; FARAONI, A. S.; PINHEIRO-SANT’ANA; H. M. A; Efeitos do processamento industrial de alimentos sobre a estabilidade de vitaminas. **Alim. Nutr.** v.19, n.1, p. 83-95, 2008.

COURI, S.; PINTO, G. A. S.; SENNA, L. F. de e MARTELLI, H. L. Influence of metal ions on pellet morphology and polygalacturonase synthesis by *Aspergillus niger* 3T5B8. **Brazilian Journal of Microbiology**.v.34, n.1, p. 16-21; 2003.

- CULLEN, K. W., HIMES, J. H., BARANOWSKI, T., PETTIT, J., STEVENS, M., SLAWSON, D. L., OBARZANEK, E., MURTAUGH, M., MATHESON, D., SUN, W.; ROCHON, J. Validity and reliability of a behavior-based food coding system for measuring fruit, 100% fruit juice, vegetable, and sweetened beverage consumption: results from the girls health enrichment multisite studies. **Preventive Medicine** v.38, p.24–33, 2004.
- DA SILVA, R., FRANCO, C. M. L., GOMES, E. Pectinases, hemicelulases e celulases, ação, produção e aplicação no processamento de alimentos: revisão. **Bol. SBCTA**, Campinas, v. 31, n. 2, p. 249-260, 1997.
- DAIUTO, E. R.; VIEITES, R. L.; PIGOLI, D. R.; CARVALHO, L. R. DE. Alterações nutricionais em casca e polpa de abóbora decorrentes de diferentes métodos de cozimento. **Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha** v.13, n.2, p.196-203; 2012.
- DE PINHO, P. G.; GONCALVES, R. F.; VALENTÃO, P.; PEREIRA, D, M.; SEABRA, R. M.; ANDRADE, P. B.; SOTTOMAYOR M.; Volatile composition of *Catharanthus roseus* (L.) G. Don using solid-phase microextraction and gas chromatography/mass spectrometry. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis** v.49, p.674–685, 2009.
- DEMIR, N.; ACAR, J; SARIOGLU, K.; MUTLU, M.; The use of commercial pectinase in fruit juice industry. Part 3: Immobilized pectinase for mash treatment **Journal of Food Engineering** v.47; p. 275-280; 2001.
- DOGAN, I. S.; YILDIZ, O.; EYDURAN, E.; KOSE, S. A study on determination of functional food consumption habits and awareness of consumers in Turkey. **Bulgarian Journal of Agricultural Science**. Agricultural Academy, v.17, n. 2, p.246-257, 2011.
- DUTCOSKY, S.D. Análise sensorial de alimentos. Curitiba: Ed. DA Champagnat, 123 p., 1996.
- FARAONI, A. S.; RAMOS, A. M.; STRINGHETA, P. C.; Caracterização de manga orgânica cultivar Ubá. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.11, n.1, p.9-14, 2009.
- FARIÑA, L. S. C.; RODRIGUES, I. M. M. A.; HENRIQUES, M. H. F.; SARAIVA, R. J. L. Otimização do rendimento do sumo de cenoura durante o processo produtivo. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v.1, n.1, p.64-81, 2007.
- FERRAREZI, A. C.; SANTOS, K. O. dos; MONTEIRO, M.; Avaliação crítica da legislação brasileira de sucos de fruta, com ênfase no suco de fruta pronto para beber. **Rev. Nutr.**, v.23, n.4, p. 667-677, 2010.
- FRANCO, M. R. B.; JANZANTTI, N. S. Aroma de Frutas Tropicais: Avanços na metodologia instrumental da pesquisa do sabor. In: FRANCO, M.R.B.(Ed.). **Aroma e sabor de alimentos: Temas atuais**. São Paulo, Editora Varela, 2004.

GARRUTI, D. S.; FACUNDO, H. V. V.; LIMA, J. R.; AQUINO, A. C. Sensory evaluation in fruit product development. IN: Rodrigues, S. e FERNANDES, F. A. N. (eds) **Advances in fruit processing technologies**, Boca Raton: CRC Press, p.415-440, 2012.

GOMES, C. A., DE O; PINTO, G. A. S; TERZI, S.; FREITAS, S. P.; COURI, S. Aqueous Enzymatic Extraction of Peach Palm Oil. **Brazilian Journal Food Technology**, Brasil, v. 5, p. 211-216, 2002.

GONZALEZ, S. L.; ROSSO, N. D.; Determination of pectin methylesterase activity in commercial pectinases and study of the inactivation kinetics through two potentiometric procedures **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, n.31, v.2, p. 412-417, 2011.

IAL. Instituto Adolfo Lutz. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4^a Edição; 1^a Edição Digital, São Paulo, Brasil, 1020 p., 2008.
INSA Dr. Ricardo Jorge. **Tab. Comp. Alim**. 2006. Disponível em: <<http://www.insa.pt/sites/INSA/Portugues/Paginas/portallInicio.aspx>>, Acesso em: 05 de out. 2010.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). 2010. *Pesquisa de orçamento familiares: 2008-2009*. Rio de Janeiro: IBGE, 282p.

INSUMOS. Artigo 1 - Amidos: fontes, estruturas e propriedades funcionais. Editora Insumos **Revista Aditivos e ingredientes**. n.63 - julho/agosto 2009. Disponível em: http://www.insumos.com.br/aditivos_e_ingredientes/materias/124.pdf. Acesso em: 04 ago 2014.

ISIL, S.; NILUFER, A., Investigation of Factors Affecting Xylanase Activity from *Trichoderma harzianum* 1073 D3. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.48, n.2, p.187-193, 2005.

JOSHI, V. K.; PARMAR, M; RANA, N.; Purificação e caracterização de pectinase produzida a partir de bagaço de maçã: avaliação da eficiência da extração de sucos de frutas e clarificação. **Indian Journal of Natural Products and Resources**, v. 2, n.2, p.189-197, 2011.

KASHYAP, D.R.; VOHRA, P.K.; CHOPRA, S.; TEWARI, R.; Applications of pectinases in the commercial sector: a review. **Bioresource Technology**.v.77, n.3 p.215-227, 2001.

KEBEDE, B. T.; GRAUWET, T.; MUTSOKOTI, L.; PALMERS, S.; VERVOORT, L.; HENDRICKX, M.; LOEY, A. V.; Comparing the impact of high pressure high temperature and thermal sterilization on the volatile fingerprint of onion, potato, pumpkin and red beet. **Food Research International**. v.56, p.218–225, 2014.

LANZILLOTTI, R. S.; LANZILLOTTI, H. S. Análise sensorial sob o enfoque da decisão fuzzy. **Rev. Nutr.**, v.12, n.2, p. 145-157. ISSN 1415-5273, 1999.

LARRAURI, J.A.; RUPÉREZ, P.; SAURA-CALIXTO, F.; Effect of drying temperature on the stability of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomace peels. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.45, p.130-1393, 1997.

LAWLESS, T. L.; HEYMANN, H. **Sensory evaluation of food: Principles and practices**. 2 ed. New York; Springer, 1999. 827 p.

LI CHUANSHENG. Wang Fuqing. **Pumpkin red fermented wine and its fermentation process**. CN 1772866 A, 11 Nov. 2005, 17 May 2006.

LUCKOW, T.; DELAHUNTY, C.; Consumer acceptance of orange juice containing functional ingredients. **Food Res. Int.** v.37, p.805–814, 2004.

LUENGO, R.F.A.; CALBO, A.G. **Armazenamento de hortaliças**. Brasília: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa Hortaliças, 2001. 242 p.

MACFIE, H. J.; BRATCHELL, N. ; GREENHOFF, K.; VALLIS, L. V. Designs to balance the effect of order of presentation and first-order carry-over effects in hall tests. **Journal of Sensory Studies**, v.4, p.129-148, 1989.

MALACRIDA, C. R.; MOTTA, S. da; Compostos fenólicos totais e antocianinas em suco de uva. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.25, n.4, p. 659-664, 2005.

MARCO, P. H.; POPPI, R. J.; SCARMINIO, I. S. Procedimentos analíticos para identificação de antocianinas presentes em extratos naturais. **Quím. Nova**, v.31, n.5, p.1218-1223, 2008.

MARTINS, E. da S.; **Purificação e caracterização bioquímica de poligalacturonases termoestáveis produzidas pelo fungo *Thermoascus aurantiacus* através de fermentação submersa e fermentação em estado sólido**. 108 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Instituto de Biociências de Rio Claro Rio Claro; Universidade Estadual Paulista, 2006.

MASAHIRO, H., KATSUMI, U. Volatile Flavor Compounds of Boiled Pumpkin. **Koryo, Terupen oyobi Seiyu Kagaku ni Kansuru Toronkai Koen Yoshishu**, v. 45, p.240-242, 2001.

MAYRINK, M. I. C. B., **Produção de enzimas fúngicas e avaliação do potencial das celulases na sacarificação da celulose**. 81p. Tese (Doutorado em Bioquímica agrícola); Universidade Federal de Viçosa, Viçosa – Minas Gerais, 2010.

MCCARTHY, K. L.; MCCARTHY, M. J.; Relationship between In-line Viscosity and Bostwick Measurement during Ketchup Production. **Journal of Food Science**.v.74, n.6, p.E291–E297, 2009.

MEDEIROS, S. Nutricionista Sara Medeiros. Disponível em:<<http://www.http://saramedeirosnutricionista.blogspot.com.br/>>, Acesso em: 15 de mar. 2015.

MEHINAGIC, E.; ROYER,G.; BERTRAND,D.; SYMONEAUX,R.; LAURENS,F.; JOURJON;F.; Relationship between sensory analysis, penetrometry and visible NR spectroscopy of apples belonging to different cultivars. **Food Quality and Preference**, v.14, n.5, p.473-484, 2003.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. Sensory evaluation techniques. 4th Edition, Boca Raton: CRC Press, pp.464, 2006

MELO, E. A.; LIMA, V. L. A. G. de; MACIEL, M. I. S.; CAETANO, A. C. da S.; LEAL, F. L. L. Polyphenol, ascorbic acid and total carotenoid contents in common fruits and vegetables. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.9, p.89-94, 2006.

MÉNDEZ, D.H.; MOSQUERA, M. M. I.; Bioaccessibility of carotenes From Carrots: Effect of Cooking and Addition of oil. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**. v. 8, p. 407-412, 2007.

MENRAD, K.; Market and marketing of functional food in Europe. **Journal of Food Engineering**.v.56, p.181–188, 2003.

MILCZAREK, R. R. e MCCARTHY, K. L. Relationship between the Bostwick measurement and fluid properties. **Journal of Texture Studies**.v.37, p.640–654, 2006.

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

MOURA, C. L. A. de; **Maceração enzimática da polpa de cajá (*Spondias mombin* L.)**.2009. 66p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal do Ceará, Fortaleza - Ceará. 2009.

MOURA, M.C.C.L. **Identificação de fontes de resistência ao potyvirus ZYMV e diversidade genética e ecogeográfica em acessos de abóbora**. 86f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, MG. 2003.

MUNTEAN, E.; Quantification of carotenoids from pumpkin juice by hplc-dad Scientific Researches. **Agroalimentary Processes and Technologies**, v.6, n.1 p.123-128, 2005.

MURKOVIC, M.; MÜLLEDER, U.; NEUNTEUFL, H.; Carotenoid content in different varieties of pumpkins. **J. Food Compost. Anal.** v.15, p.633–638, 2002.

NARAIN, N.; ALMEIDA, J. N.; GALVÃO, M. S.; MADRUGA, M. S.; BRITO, E. S. Compostos voláteis dos frutos de maracujá (*Passiflora edulis* forma *Flavicarpa*) e de cajá (*Spondias mombin* L.) obtidos pela técnica de headspace dinâmico. **Ciênc. Technol. Aliment.** v.24, n.2, p.212-216, 2004.

NATURE.COM. Disponível em:<<http://www.nature.com/scitable/content/plant-plasmamembrane-and-cell-wall-structure-14713218>>. Acesso em: 15 maio 2015.

NOGUEIRA, A.; MONGRUEL, C.; OLIVEIRA, M. C. de; PASSOS, M.; WOSIACKI, G.; Avaliação da trituração e de tratamentos enzimáticos na obtenção de suco de maçã por centrifugação. *Publ. UEPG Ci. Exatas Terra, Ci. Agr. Eng.*, Ponta Grossa, v.11, n.3: p.7-12, dez. 2005.

NOVOZYMES. Disponível em: <<http://www.novozymes.com/en/Pages/default.aspx>>. Acesso em: 20 ago 2015.

OBANDA, M.; OWUOR, P. O. Flavanol composition and caffeine content of green leaf as quality potential indication of Kenyan black teas. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. v.74, p.209-215, 1977.

OGEDA, T. L. **Hidrólise Enzimática de celuloses pré-tratadas**. 2011. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade de São Paulo, Instituto de Química, São Paulo, 2011.

OGATA, B. H.; **Caracterização das frações celulose, hemicelulose e lignina de diferentes genótipos de cana-de-açúcar e potencial de uso em biorrefinarias**. 2013. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2013.

OLIVEIRA, **Avaliação do processo de fermentação alcoólica de suco de maçã obtido por liquefação enzimática**. 2006. 1v. 92p. Dissertação (Ciên. e Tecn.Alim.) - UEPG, Ponta Grossa, 2006.

PADAYACHEE, A.; NETZEL, G.; NETZEL, M.; DAY, L.; MIKKELSEN, D.; GIDLEY, MJ. Lack of release of bound anthocyanins and phenolic acids from carrot plant cell walls and model composites during simulated gastric and small intestinal digestion. *Food & Function*. v.4, n.6, p.906-916, 2013.

PADAYACHEE, A.; NETZEL, G.; NETZEL, M.; DAY, L.; ZABARAS, D.; MIKKELSEN, D.; GIDLEY, MJ. Binding of polyphenols to plant cell wall analogues – Part 1: Anthocyanins. *Food Chemistry*, v.134, p.155-16, 2012.

PAIVA, E. P.; LIMA, M. S.; PAIXÃO, J. A.; Pectina: propriedades químicas e importância sobre a estrutura da parede celular de frutos durante o processo de maturação. *Rev. Iberoam. Polim.*, v.10, n.4, p.196-211, 2009.

PARDO, A. G., FORCHIASSIN, F. Influence of temperature and pH on cellulase activity and stability in *Nectria catalinensis*. *Rev Argent Microbiol*. n.31, v.1, p.31-35, 1999.

PARLIMENT, T.H.; KOLOR, M.G.; RIZZO, D.J.; HERZING-GIORDANO, D. Volatile Constituents of Pumpkins. *General Foods Corporation*, Technical Center, Chapter 11, p.129–136, v.170. 1981.

PENNA, A.L.B.; OLIVEIRA, M.N.; BARUFFALDI, R.; Análise de consistência de iogurte: correlação entre medida sensorial e instrumental. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, v.17, n.2, p.98-101.; 1997.

PINTO, G. A. S. **Procedimento operacional padrão – Determinação da atividade de α -amilase, poligalacturonase, celulase e invertase.** v 1, 2, 3 e 4. p. 1-5, 2002.

PINTO, L. G. C.; **Efeito do processamento sobre o perfil sensorial e os constituintes voláteis do suco de acerola (*Malpighia glabra L.*).** 2006, 1v., 91p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2006.

PIRES, C. R. F.; LIMA, J. P. de; NASSUR, R. de C. R.; LIMA, L. C. de O.; VILAS BOAS E. V. de B.; Caracterização do perfil volátil de abóboras comerciais brasileiras (*Curcubita spp.*) utilizando HS/SPME e GC/MS **ENCICLOPÉDIA BIOSFERA**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.9, n.17; p. 597-609, 2013

PIRILO, C. P.; SABIO, R. P. 100 % Suco: Nem tudo é suco nas bebidas de frutas. **Revista Hortifruti Brasil**, p. 6-13, 2009.

PROVESI, J. G. **Estabilidade e efeitos do processamento e Estocagem sobre os carotenóides em purês de Abóbora.** 2010, 1v., 123p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010

PROVESI, J. G., DIAS, C. O.; AMANTE, E. R.; Changes in carotenoids during processing and storage of pumpkin puree. **Food Chemistry**; v.128, p.195–202, 2011.

RAMOS, S. R. R.; QUEIRÓZ, M. A. de; CASALI, V. W. B.; CRUZ, C. D. 1999. Recursos genéticos de Cucurbita moschata: caracterização morfológica de populações locais coletadas no Nordeste brasileiro. In: QUEIROZ MA de; GOEDERT CO; RAMOS SRR. (Org.). Recursos Genéticos e Melhoramento de Plantas para o Nordeste Brasileiro. v. 1.

RAMOS, S. R. R.; QUEIRÓZ, M. A. de; CASALI, V. W. D.; CRUZ, C.D. Divergência genética em germoplasma de abóbora procedente de diferentes áreas do Nordeste. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 18, n. 3, p. 195-199, nov. 2000.

RAMOS, S. R. R.; LIMA, N. R. S.; DOS ANJOS, J. L.; CARVALHO, H. W. L. de; OLIVEIRA, I. R. de ; SOBRAL, L. F.; CURADO, F. F.; **Aspectos técnicos do cultivo da abóbora na região Nordeste do Brasil**; – Aracaju, SE : 36 p. (Documentos/Embrapa Tabuleiros Costeiros), Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2010.

RAVI, U.; MENON, L.; ARUNA, M.; JANANNI, B.K.; Development of Orange-White Pumpkin Crush and Analysis of its Physicochemical, Nutritional and Sensory Properties **American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci.**, v.8, n.1, p.44-49, 2010.

RESENDE, G. M.; BORGES, R.M.E.; GONÇALVES, N. P. S. Produtividade da cultura da abóbora em diferentes densidades de plantio no Vale do São Francisco. **Horticultura Brasileira**. v.31, p.504-508, 2013.

RIU-AUMATELL, M.; CASTELLARI, M.; L_OPEZ-TAMAMES, E.; GALASSI, S.; BUXADERAS, S.; Characterisation of volatile compounds of fruit juices and nectars by HS/SPME and GC/MS; **Food Chemistry**; v.87, p.627–637, 2004.

RODRIGUES, R. D. P.; **Obtenção de néctar de banana por maceração enzimática de polpa da variedade Prata-Anã**. 2013. 95p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Universidade Federal do Ceará – Ceará. 2013.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. A guide to carotenoids analysis in foods. Washington: Ilsi, 119p, 1999.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; KIMURA, M.; GODOY, H. T.; AMAYA-FARFAN, J.; Critical Review. Updated Brazilian database on food carotenoids: Factors affecting carotenoid composition. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 21, p.445–463, 2008.

ROMBOUTS, F. M.; PILNIK, W. **Pectic enzymes**. In: Microbial Enzymes and Bioconversions, v. 5, p. 227-282, ed. A. H. Rose. Academic Press, London, 1980.

SÁ, F. M. P. **Avaliação das propriedades funcionais e térmicas do amido da fruta-pão (*Artocarpus altilis*) nativo e modificado por succinilação e hidrólise ácida**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos); Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2007.

SABBE, S.; VERBEKE, W.; VAN DAMME, P.; Analysing the market environment for açai (*Euterpe oleracea* Mart.) juices in Europe. **Fruits**, v. 64; n. 5; p. 273-284; 2009.

SÁNCHEZ-MORENO, C.; PLAZA, L.; DE ANCOS, B.; CANO, M. P.; Impact of high-pressure and traditional thermal processing of tomato purée on carotenoids, vitamin C and antioxidant activity. **J. Sci. Food Agric**. v.86, p.171–179, 2006.

SANDI, D.; CHAVES, J. B. P., SOUZA, A. C. G. SILVA, M. T. C.; PARRERAS, J. F. M. Correlações entre características físico-químicas e sensoriais em suco de maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* var. *flavicarpa*) durante o armazenamento. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n. 3, p. 355-361, set./dez. 2003.

SANTI, L.; BERGER, M.; SILVA, W. O. B. da; **Pectinases e pectina: aplicação comercial e potencial biotecnológico**. Caderno pedagógico, Lajeado, v.11, n.1, p.130-139, 2014. ISSN 1983-0882

SANTOS, J. C. B.; VILAS BOAS, E. V. de B.; PRADO, M. E. T.; PINHEIRO, A. C. M.; Avaliação da qualidade do abacaxi "Pérola" minimamente processado armazenado sob atmosfera modificada. **Ciênc.agrotec**. v.29, n.2, p. 353-361, 2005.

SAURA-CALIXTO, F. Concept and health-related properties of nonextractable polyphenols: the missing dietary polyphenols. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.60, p.11195–11200, 2012.

SCHIEBER, A.; FÜGEL, R.; HENKE, M.; CARLE, R., Determination of the fruit content of strawberry fruit preparations by gravimetric quantification of hemicellulose, **Food Chemistry**, v.91, p.365-371, 2005.

SCHMIDELL, W., LIMA, U.A., AQUARONE, E., BORZANI, W. **Biotechnologia industrial: Engenharia bioquímica**. São Paulo, SP, Ed. Edgard Blucher LTDA, v.3. 593p, 2001.

SCHMIDT, H. de O. S. **Avaliação reológica e sensorial de espessantes domésticos em diferentes líquidos como alternativa para pacientes disfágicos**. 2013. 48p. Monografia (Graduação) Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre – Rio Grande do Sul, 2013.

SHAVAKHI, F.; BOO, H. C.; OSMAN, A.; GHAZALI, H. M.; Effects of enzymatic liquefaction, maltodextrin concentration, and spray-dryer air inlet temperature on pumpkin powder characteristics. **Food Bioprocess Technol**, v.5, n.7, p.2837-2847, 2011.

SILVA, M. de F. G. da; **Atributos de qualidade de abóbora (*Cucurbita moschata* cv Leite)**. 1v., 81p., Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2012.

SILVA, M. L. C.; COSTA, R. S.; SANTANA, A. dos S.; KOBLITZ, M. G. B.. Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.31, n.3, p.669-682, 2010.

SJÖHOLMA, E.; GUSTAFSSONA, K.; BERTHOLDA, F.; COLMSJO, A. Influence of the carbohydrate composition on the molecular weight distribution of kraft pulps. **Carbohydrate Polymers**. v.41, p.1-7, 2000.

SOUZA, C. O. de; MENEZES, J. D. de S.; RAMOS NETO, D. C.; ASSIS, J. G. de A.; SILVA, S. R. da; DRUZIAN, J. I.; Carotenoides totais e vitamina A de cucurbitáceas do Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Semiárido. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.42, n.5, p.926-933, mai, 2012.

SPIER, F. **Efeito dos tratamentos alcalino, ácido e oxidativo nas propriedades de amido de milho**. 72f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2010.

STONE, H.; SIDEL, J.L. Sensory evaluation practices. 3 ed. London: Elsevier, 377 p. 2004.

SUNA, S.; TAMER, C. E.; ÇOPUR, Ö. U.; TURAN, M. A. Determination of antioxidant activity, total phenolics and mineral contents of some functional vegetable juice. **Journal of Food, Agriculture & Environment**. v.11; n. 2, p.213-218, 2013.

TACO. Tabela Brasileira de Composição de Alimentos / NEPA – UNICAMP. 4ª Ed. rev. e ampl. Campinas: NEPA-UNICAMP, 161 p., 2011.

TEIXEIRA, L. V.; Análise sensorial na indústria de alimentos **Rev. Inst. Latic.** “**Cândido Tostes**”, Jan/Fev, n. 366, v.64; p.12-21, 2009.

TEODORO, C. E. de S.; MARTINS, M. L. L.; Culture conditions for the production of thermostable amylase by *Bacillus* sp. **Braz. J. Microbiol**, v.31, n.4, p.298-302, 2000.

THOMAZINI, M.; FRANCO, M.R.B. Metodologia para análise dos constituintes voláteis do sabor. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.34, n.1, p.52-59, 2000.

UENOJO, M., PASTORE, G. M.; Pectinases: aplicações industriais e perspectivas. **Quím. Nova.**, vol.30, n.2, pp. 388-394, 2007.

UENOJO, M.; MARÓSTICA JR., M.R.; PASTORE, G.M. Carotenóides: propriedades, aplicações e biotransformação para formação de compostos de aroma. **Química Nova**, v. 30, n. 3, p. 616-622, 2007.

UMSZA-GUEZ, M. A.; RINALDI, R.; LAGO-VANZELA, E. S.; MARTIN, N.; SILVA, R. da; GOMES, E.; THOMÉO. J. C.; Effect of pectinolytic enzymes on the physical properties of caja-manga (*Spondias cytherea* Sonn.) pulp. **Ciênc.Tecnol.Aliment.**, v.31, n.2, p.517-526, 2011.

UNIVERSITY JIANGNAN. Xu Shiyang, Wang Zhang, Qin Azul, Yang Rui Jin, Qian Chang-hua. **Method for preparing pumpkin mixed juice by enzyme engineering technology**. CN 1203786 C, 2 Sep. 2003, 1 Jun. 2005.

VAN HET HOF, K. H.; DE BOER, B. C. J.; TIJBURG, L. B. M.; LUCIUS, B. R. H. M.; ZIJP, I.; WEST, C. E.; HAUTVAST, J. G. A. J.; WESTSTRATE, J. A.; 2000. Carotenoid bioavailability in humans from tomatoes processed indifferent ways determined from the carotenoid response in the triglyceride-rich lipoprotein fraction of plasma after a single consumption and in plasma after four days of consumption. **J. Nutr.** v.130, p.1189–1196, 2000.

VASCONCELOS, N. M. de; PINTO, G. A. S.; ARAGÃO, F. A. de S. Determinação de açúcares redutores pelo ácido 3,5-dinitrosalicílico: Histórico do desenvolvimento do método e estabelecimento de um protocolo para o laboratório de bioprocessos. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento/Embrapa Agroindústria Tropical**. Fortaleza, CE; ISSN 1679-6543; 88; 29p.; Dez/2013.

VENDRAMINI, A. L.; TRUGO, L. C. Chemical composition of acerola fruit (*Malpighia puniceifolia* L.) at three stages of maturity. **Food Chemistry**, v.71, p.195–198, 2000.

VERONEZI, C. M.; JORGE N. Carotenoides em abóboras. **B.CEPPA**, Curitiba, v.29, n.1, p.9-20, jan./jun. 2011.

WHITAKER, J.R. Microbial pectolytic enzymes. In: FOGARTY, W.. *Microbial Enzymes and Biotechnology*. Dublin: Applied Science Publisher, p.133-137, 1990. XLSTAT-MX. Excel software (2005).

YADAV, M; JAIN, S; TOMAR, R; PRASAD, GB; YADAV, H. Medicinal and biological potential of pumpkin: an updated review. **Nutr Res Rev**. Dec; v.23, n.2, p.184-190, 2010.

YEOMAN, C. J.; HAN, Y.; DODD, D.; SCHROEDER, C. M.; RODERICK I. MACKIE, R. I.; CANN, I. K. O. Chapter 1. Thermostable Enzymes as Biocatalysts in the Biofuel. **Advances in Applied Microbiology**, v. 70, p.1-55; 2010.

ZANCHETTA, A.; **Produção de celulases fúngicas por fermentação em estado sólido e submersa utilizando biomassa lignocelulósica**. 88p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) - Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", São José do Rio Preto, 2012.

ZDUNEK, A.; KOZIOL, A.; PIECZYWEK, P. M.; CYBULSKA, J.; Evaluation of the Nanostructure of Pectin, Hemicellulose and Cellulose in the Cell Walls of Pears of Different Texture and Firmness **Food Bioprocess Technol**, v.7, p.3525-3535, 2014.

ZHANG, QIN LAN XU SHIYING WANG; High Quality Juice by Production from Enzymatic Liquefaction of Pumpkin [J]. **Food and Fermentation Industries**, v.12, p.16, 2003.

APÊNDICES

APÊNDICE A - Modelo de ficha sensorial para os testes de aceitação da consistência, aceitação global e escala do Ideal do néctar de abóbora.

Serão apresentadas 04 amostras de néctar de abóbora codificadas. Faça a avaliação da ACEITAÇÃO E IDEALIDADE DA CONSISTÊNCIA e ACEITAÇÃO GLOBAL utilizando a escala hedônica, segundo instruções fornecidas.

Prove a amostra 01 e indique o quanto você gostou ou desgostou da CONSISTÊNCIA desse néctar.

- () Gostei muitíssimo Amostra: _____
- () Gostei muito
- () Gostei
- () Gostei pouco
- () Não gostei nem desgostei
- () Desgostei pouco
- () Desgostei
- () Desgostei muito
- () Desgostei muitíssimo

Ainda em relação à CONSISTÊNCIA, indique na escala abaixo o quanto a consistência dessa amostra está próximo da idealidade para você.

- () Muito acima do ideal
- () Pouco acima do ideal
- () Consistência ideal
- () Pouco abaixo do ideal
- () Muito abaixo do ideal

Agora avaliando essa mesma amostra de uma maneira GERAL diga o quanto você gostou ou desgostou utilizando a escala hedônica abaixo:

- () Gostei muitíssimo
- () Gostei muito
- () Gostei
- () Gostei pouco
- () Não gostei nem desgostei
- () Desgostei pouco
- () Desgostei
- () Desgostei muito
- () Desgostei muitíssimo

Comentários: _____

Terminada a avaliação da primeira amostra TOME um pouco de ÁGUA e COMA um PEDAÇO DE PÃO.

Prove a segunda amostra e dê sua opinião da mesma forma.

Repita o procedimento para as demais amostras.

APÊNDICE B- Modelo de ficha sensorial para os testes simples diferença e comparação pareada preferência do néctar de abóbora

Análise Sensorial de Néctar de Abóbora

Nome: _____ Data ____/____/____ Proveedor: _____

Você está recebendo 2 amostras de néctar de abóbora. Por favor, prove as amostras da esquerda para a direita e indique se elas são DIFERENTES ou não. Entre uma amostra e outra beba um pouco de água e coma um pedaço de pão.

 763 251 São Diferentes? () SIM () NÃO

Se você achou as amostras diferentes, responda às questões abaixo:

1) Marque com um (X) na opção que representa em que atributos as amostras diferem:

() Sabor () Consistência () Ambos

() Identifiquei outra(s) diferença(s). Qual (is)?

2) Circule aquela que você PREFERE: 763 251

Obrigado!

APÊNDICE C–TCLE do néctar de abóbora utilizado na avaliação sensorial



TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

O Sr.(a) está sendo convidado(a) a participar como voluntário(a) em uma atividade do projeto de pesquisa **“Utilização de enzimas como ferramenta para a ampliação do uso de frutos da região Nordeste”**, de responsabilidade do pesquisador Dr. Gustavo Adolfo Saavedra Pinto, da Embrapa Agroindústria Tropical.

O propósito desta pesquisa é caracterizar sensorialmente os néctares desenvolvidos a partir das polpas maceradas enzimaticamente. Para obtenção dos dados, lhe será solicitado comparecer ao Laboratório de Análise Sensorial, onde em cerca de 15 minutos realizará o teste sensorial. Você não será remunerado por esta atividade, porém contribuirá para elucidar como o tratamento enzimático afeta as características sensoriais dos néctares desenvolvidos. Sua participação não é obrigatória, e, a qualquer momento, você poderá desistir de participar e retirar seu consentimento. Sua recusa não trará nenhum prejuízo em sua relação com o pesquisador ou com a instituição. Ainda lhe será garantido o sigilo que assegure a privacidade da sua identidade, como também a confidencialidade de todos os resultados obtidos, os quais somente serão divulgados dados diretamente relacionados aos objetivos da pesquisa pelos pesquisadores desse projeto.

O consumo deste produto não oferece riscos à saúde, contudo se ocorrer algum desconforto durante ou até 12 h após a análise você será encaminhado ao serviço público de saúde.

Após ter sido esclarecido(a) sobre as informações acima, no caso de concordar em fazer parte do estudo, por favor assinar ao final do documento. Você receberá uma cópia deste termo onde consta o telefone e endereço do pesquisador principal, podendo tirar dúvidas do projeto e de sua participação.

Gustavo Adolfo Saavedra Pinto (Pesquisador) - Embrapa Agroindústria Tropical - (85) 3391-7241

Eu, _____, declaro que li as informações contidas nesse documento, fui devidamente informado(a) pelo pesquisador Gustavo Adolfo Saavedra Pinto sobre a pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Foi-me garantido que posso retirar o consentimento a qualquer momento, sem que isso leve a qualquer penalidade. Declaro ainda que recebi uma cópia desse Termo de Consentimento. Desse modo, concordo em participar, como voluntário, do projeto de pesquisa acima descrito.

Fortaleza/CE, ____ de _____ de _____

Participante

Responsável pelo teste

Data	Participante	Responsável pelo Teste
____/____/____		
____/____/____		
____/____/____		
____/____/____		
____/____/____		

APÊNDICE D – Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual do Ceará

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO
CEARÁ - UECE



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Aplicações da análise sensorial no desenvolvimento de produtos e processos de interesse da agroindústria tropical

Pesquisador: DEBORAH DOS SANTOS GARRUTI

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 05879912.0.0000.5534

Instituição Proponente: Centro de Ciências da Saúde

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 147.279

Data da Relatoria: 22/10/2012

Apresentação do Projeto:

O projeto se propõe a utilizar métodos estatístico-sensoriais na pesquisa e desenvolvimento de produtos de interesse da agricultura e da agroindústria tropical brasileira, atendendo às demandas de pesquisa e desenvolvimento realizados na Embrapa Agroindústria Tropical em parceria com a Universidade Estadual do Ceará (UECE) e a Universidade Federal do Ceará (UFC), de forma a viabilizar a realização de trabalhos de monografia de graduação e especialização, bem como trabalhos de dissertação de mestrado e teses de doutorado nas áreas de nutrição, ciência, tecnologia e engenharia de alimentos. A grande maioria desses projetos refere-se a estudos de melhoramento genético para seleção de fontes de fornecimento de matérias-primas e ingredientes, desenvolvimento de novos produtos e processos de conservação de alimentos e estudos de estabilidade de produtos in natura, minimamente processados e processados, para determinação de vida de prateleira. Serão utilizados testes de análise sensorial dos alimentos e bebidas de acordo com a normativa (NBR 12994, 1993) da Associação Brasileira de Normas Técnicas baseada na ISO 6658/1985 e com o Manual de Análise Sensorial da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos. A população alvo da pesquisa sensorial será voluntária, sem remuneração. Para formar uma equipe de provadores serão recrutados funcionários de todos os setores da empresa e pessoas da comunidade local. O recrutamento dos provadores será feito por meio de entrevista pessoal e questionários. Os indivíduos serão informados sobre os objetivos gerais dos testes, o tempo necessário em cada sessão e o número de sessões, a frequência dos testes e necessidades da seleção e treinamento. O

Endereço: Av. Paranjana, 1700

Bairro: Itaperi

UF: CE

Município: FORTALEZA

CEP: 00.000-000

Telefone: (85)3101-9603

E-mail: diana@uece.br

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO
CEARÁ - UECE



perfil dos provadores será diferente, de acordo com o tipo do produto e objetivo do teste sensorial. Em testes discriminativos e descritivos será evitado o recrutamento de adultos acima de 60 anos, devido à redução natural do olfato e paladar, além de fumantes e portadores de doenças neuro-degenerativas que comprometam os sentidos. Em testes afetivos o critério de inclusão será baseado principalmente na frequência de consumo, a qual será variável para cada tipo de produto. Quando o produto for destinado a uma determinada faixa

etária ou tipo de consumidor (crianças, idosos, donas de casa, etc) poderão ainda ser utilizados a idade e o sexo como critérios de inclusão. Em testes com crianças será providenciada com antecedência uma autorização escrita dos pais ou responsáveis. O consumo dos produtos analisados nos projetos de pesquisa não oferece riscos à saúde. Em testes de estabilidade, serão realizadas análises microbiológicas prévias nas amostras

para garantir sua segurança. Contudo se ocorrer algum desconforto durante ou até 12 h após a análise o provador será encaminhado ao serviço público de saúde. Os dados serão avaliados por meio de diferentes testes estatísticos, dependendo do tipo de teste sensorial realizado, utilizando-se desde estatística descritiva e distribuição de frequência, análise de variância, até testes multivariados como Análise de Componentes Principais (ACP), PLS e Análise de Correspondência. Testes discriminativos e de Preferência: distribuições binomiais e testes não-paramétricos, como teste de Friedman. Testes Descritivos: análise de variância (ANOVA), ACP, análise de clusters, Análise Procrustes Generalizada, análises de correlação e regressão, univariada e multivariada (PLS). Testes de aceitação: ANOVA, teste t, teste Qui-quadrado, distribuição de frequências, ACP, análise de clusters, análises de correlação e regressão. Testes Descritivos com consumidores: testes multivariados como Análise de Correspondência e Análise de Fatores.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

O projeto se propõe a utilizar métodos estatístico-sensoriais na pesquisa e desenvolvimento de produtos de interesse da agricultura e da agroindústria tropical brasileiras.

Objetivo Secundário:

Os objetivos específicos do projeto são: Avaliação das propriedades sensoriais em estudos de melhoramento genético de cultivares de frutos e hortaliças; Classificação de produtos in natura; Seleção de fontes de fornecimento de matérias-primas e ingredientes; Avaliação de produtos-teste experimentais para saber se existe diferença entre eles em estudos de melhoramento de produtos e desenvolvimento de novos produtos; Avaliação de alterações nas características sensoriais de um produto modificado em função do processamento e de fatores como: substituição de ingredientes ou equipamentos, mudança de fornecedores, mudanças no processamento, etc.; Controle de qualidade de alimentos e bebidas ao longo de toda a sua cadeia de produção, desde as matérias-

Endereço: Av. Paranjana, 1700

Bairro: Itaperi

CEP: 00.000-000

UF: CE

Município: FORTALEZA

Telefone: (85)3101-9603

E-mail: diana@uece.br

primas, passando pelo processamento, acondicionamento e estocagem; Estudos de estabilidade de produtos in natura, minimamente processados e processados, para determinação de vida de prateleira; Recrutamento, seleção e treinamento de provadores para implementar equipes treinadas para análise descritiva; Caracterização sensorial de alimentos e bebidas por análise descritiva, identificando quais os atributos que respondem pela qualidade sensorial do produto; Caracterização de um produto-teste e comparação com um produto líder de mercado ou padrões; Testes de consumidor para avaliar aceitação e preferência; Determinação de correlações entre medidas sensoriais e instrumentais; Desenvolvimento de normas de qualidade.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

O consumo dos produtos analisados nos projetos de pesquisa não oferece riscos à saúde. Em testes de estabilidade, serão realizadas análises microbiológicas prévias nas amostras para garantir sua segurança. Contudo se ocorrer algum desconforto durante ou até 12 h após a análise o provador será encaminhado ao serviço público de saúde.

Benefícios:

Os provadores serão informados dos objetivos de cada projeto, e no Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) será explicitado o benefício que cada estudo trará para o avanço do conhecimento científico e tecnológico, para o desenvolvimento sócio-econômico dos agentes envolvidos na cadeia produtiva em questão e para a sociedade como um todo.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O projeto envolve 2.000 provadores, sendo 1.900 provadores não treinados que são os consumidores e 100 provadores treinados. A pesquisa envolve várias instituições co-participantes.

O trabalho é relevante, pois está envolvido diretamente a importância da análise sensorial no setor alimentício é indiscutível, dada a grande variedade de aplicações que ela permite, desde a avaliação das matérias primas, passando pelo desenvolvimento de novos produtos, processamento tecnológico, controle de qualidade e determinação da validade

dos produtos in natura e processados, além de fornecer informações sobre a aceitabilidade desses produtos junto aos consumidores.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os termos estão apresentados adequadamente.

Recomendações:

Elaborar um TCLE para provadores já treinados e outro para os não treinados, consumidores.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Endereço: Av. Paranjana, 1700

Bairro: Itaperi

CEP: 00.000-000

UF: CE

Município: FORTALEZA

Telefone: (85)3101-9603

E-mail: diana@uece.br

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO
CEARÁ - UECE



O projeto é relevante e atende aos preceitos éticos da pesquisa que envolve seres humanos.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

O protocolo de pesquisa atende plenamente aos ditames da Resolução 196/96 do CNS. Os pesquisadores devem apresentar relatório final a ser encaminhado ao CEP de avaliação.

FORTALEZA, 15 de Novembro de 2012

Assinador por:

DIANA CÉLIA SOUSA NUNES PINHEIRO
(Coordenador)

Endereço: Av. Paranjana, 1700

Bairro: Itaperi

UF: CE

Telefone: (85)3101-9603

Município: FORTALEZA

CEP: 00.000-000

E-mail: diana@uece.br