

UFRRJ

INSTITUTO DE TECNOLOGIA

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

DISSERTAÇÃO

**Adaptação de Metodologia de Digestão *in vitro* para
Avaliação da Bioacessibilidade de Carotenoides em Suco
de Melancia**

Lívia da Silva Constant

2016



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS**

**ADAPTAÇÃO DE METODOLOGIA DE DIGESTÃO *IN VITRO* PARA
AVALIAÇÃO DA BIOACCESSIBILIDADE DE CAROTENOIDES EM
SUCO DE MELANCIA**

LÍVIA DA SILVA CONSTANT

Sob a Orientação da Professora
Dra. Lourdes Maria Correa Cabral

e Co-Orientação da Professora
Dra. Flávia dos Santos Gomes

Dissertação submetida como requisito parcial para a obtenção do grau de **Mestre em Ciências** no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Área de Concentração em Ciência dos Alimentos.

Seropédica, RJ
Março de 2016

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS**

LÍVIA DA SILVA CONSTANT

Dissertação submetida como requisito parcial para a obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, área de Concentração em Ciência de Alimentos.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 1º/03/2016

Flávia dos Santos Gomes (Dr^a) Embrapa-CTAA
(Orientadora)

Manuela Cristina Pessanha de Araujo Santiago (Dr^a) Embrapa-CTAA

Mônica Marques Pagani (Dr^a) UFRRJ

664.805615

C757a

T

Constant, Livia da Silva, 1990-
Adaptação de metodologia de
digestão in vitro para avaliação da
bioacessibilidade de carotenoides em
suco de melancia / Livia da Silva
Constant. - 2016.

38 f.: il.

Orientador: Lourdes Maria Correa
Cabral.

Dissertação (mestrado) -
Universidade Federal Rural do Rio de
Janeiro, Curso de Pós-Graduação em
Ciência e Tecnologia de Alimentos,
2016.

Bibliografia: f. 33-38.

1. Melancia - Processamento -
Teses. 2. Licopeno - Teses. 3.
Filtração por membranas - Teses. 4.
Alimentos - Teor vitamínico - Teses.
5. Suco de frutas - Teses. 6.
Tecnologia de alimentos - Teses. I.
Cabral, Lourdes Maria Correa, 1957-
II. Universidade Federal Rural do
Rio de Janeiro. Curso de Pós-
Graduação em Ciência e Tecnologia de
Alimentos. III. Título.

DEDICATÓRIA

À minha mãe Edna e à minha avó Iracilda, por todo amor, pelo constante incentivo, por toda ajuda e suporte.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por me permitir alcançar mais uma vitória profissional.

À minha família, aos meus primos e afilhados, por compreenderem a minha ausência e pelo incentivo.

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, por todo o crescimento profissional e pessoal que tem me proporcionado.

À Embrapa Agroindústria de Alimentos, por me permitir exercer um novo trabalho e pelo acolhimento.

À pesquisadora Lourdes Cabral, por me dar uma nova oportunidade e pela confiança.

À pesquisadora e amiga Flávia Gomes, pela orientação, pela paciência, pela parceria, pela amizade e pelo carinho, que fizeram essa trajetória ser mais gratificante.

Ao pesquisador Ronoel Godoy, pelo acolhimento, pela ajuda e pelo constante incentivo.

À pesquisadora Renata Tonon, por ter compartilhado momentos essenciais e pelas constantes ajudas.

Aos meus amigos, vizinhos e colegas por todo apoio, ajuda e por entenderem a minha ausência.

Aos amigos da turma de mestrado por compartilharem dois anos de muita luta, em especial às amigas Natalie, Sheyla, Ana Carolina e Ligia.

Aos amigos e colegas do Laboratório das Plantas 1 e 2, por toda ajuda, por todos os momentos vividos, pelos constantes ensinamentos.

À toda equipe das Plantas 1 e 2, em especial ao Luiz Fernando (Chorão), Sérgio (Filé), Agnelli, Érika, sem esquecer do Adilson (Já é), por estarem sempre dispostos a ajudar em todos os momentos.

À equipe do Laboratório de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, em especial ao Sidney e Monalisa, pela constante ajuda, suporte e incentivo.

RESUMO

CONSTANT, Lívia da Silva. **Adaptação de metodologia de digestão *in vitro* para avaliação da bioacessibilidade de carotenoides em suco de melancia.** 2016. 53p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Ciência de Alimentos). Instituto de Tecnologia, Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2016.

Conhecida por suas agradáveis características sensoriais, a melancia é um fruto muito apreciado no mundo todo, especialmente para consumo *in natura*. Ultimamente, tem sido indicada como importante fonte de licopeno, um pigmento de coloração vermelha e que vem se destacando devido a sua ação benéfica à saúde. Este composto é apontado como um potente antioxidante dentre os carotenoides e responsável pela redução do risco do desenvolvimento de algumas doenças degenerativas, aumentando, assim, o seu interesse científico. O processo de separação por membranas vem sendo muito utilizado para concentração de compostos bioativos, pois tem sido capaz de preservar os compostos termosensíveis uma vez que pode ser conduzido em condições brandas de temperatura. A fim de aumentar a estabilidade de produtos com alto teor de água, a liofilização se apresenta como um método de conservação capaz de reter características sensoriais e nutricionais do produto pois baseia-se na sublimação para remoção da água do mesmo, promovendo, assim, sua desidratação. O aumento do teor de compostos bioativos em alimentos não necessariamente, está relacionado à sua maior absorção pelo organismo humano de forma a trazer efeito benéfico para a saúde, sendo necessário assim, a avaliação da sua bioacessibilidade e biodisponibilidade. Este trabalho objetivou obter dois produtos ricos em licopeno, sendo um pó e um concentrado, caracterizá-los juntamente com o suco integral, e posteriormente avaliar a adaptação de um modelo de digestão *in vitro* para avaliação da bioacessibilidade dos carotenoides. Para a amostra em pó buscou-se avaliar a influência da quantidade de óleo adicionada na bioacessibilidade. Os resultados indicaram que o licopeno se apresentou como carotenoide majoritário em todas as amostras, sendo a amostra em pó a mais rica. Os resultados de bioacessibilidade indicaram uma maior eficiência de micelarização para a amostra de suco integral, quando comparada às outras amostras. Para a amostra em pó, a adição de 250% de óleo em relação a massa utilizada se mostrou como a melhor condição para micelarização do licopeno.

Palavras-chave: Suco de melancia, licopeno, bioacessibilidade.

Abstract

CONSTANT, Livia da Silva. **Adaptation of in vitro digestion methodology for evaluation of carotenoid bioaccessibility in watermelon juice**. 2016. 53p. Dissertation (Master in Science and Technology of Food, Food Science). Instituto de Tecnologia, Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2016.

Known for its pleasant sensory characteristics, watermelon is a fruit much appreciated worldwide, especially for fresh consumption. Lately, it has been indicated as an important source of lycopene, a red coloring pigment and has stood out due to its beneficial health action. This compound is identified as a potent antioxidant among the carotenoids and responsible for reducing the risk of development of certain degenerative diseases, thus increasing their scientific interest. The membrane separation process has been widely used for concentration of bioactive compounds, it has been able to preserve heat sensitive compounds since they can be conducted under mild temperature conditions. In order to increase the stability of products with high water content, freeze-drying is presented as a preservation method able to retain sensory and nutritional characteristics of the product because it is based on sublimation for even water removal, thereby promoting their dehydration. The increase of the content of bioactive compounds in foods does not necessarily, is related to its absorption into the human body in order to bring beneficial health effects, thus necessary assessing their bioaccessibility and bioavailability. This study aimed to get two products rich in lycopene, being a powder and concentrated extract, characterize them with the whole juice, and then evaluate the adaptation of an in vitro digestion model for evaluation of bioaccessibility of carotenoids. For the powder sample was sought to assess the influence of the amount of oil added to the bioaccessibility. The results indicated that lycopene is presented as the major carotenoid in all samples, the sample being in the richest powder. The results indicated bioaccessibility micelarização greater efficiency for the sample of whole juice when compared to the other samples. For powder sample, the addition of 250% oil mass ratio is used as shown best condition for lycopene micelarization.

Keywords: watermelon juice, lycopene, bioaccessibility.

Lista de figuras

| | |
|---|----|
| Figura 1: Variação da coloração da polpa da melancia..... | 5 |
| Figura 2: Principais carotenoides encontrados na natureza. | 6 |
| Figura 3: Estrutura do licopeno..... | 7 |
| Figura 4: Estrutura dos cis-isômeros do licopeno mais encontrados em produtos processados termicamente. Fonte: Adaptado CHASSE et al., 2001..... | 7 |
| Figura 5: Representação esquemática do processo de diafiltração..... | 9 |
| Figura 6: Imagem esquemática do sistema digestivo humano..... | 11 |
| Figura 7: Esquema das principais fases da digestão e absorção dos carotenoides nos enterócitos..... | 14 |
| Figura 8: Fluxograma do processamento dos sucos de melancia..... | 18 |
| Figura 9: Extração dos carotenoides em microescala..... | 20 |
| Figura 10: Etapas oral e gástrica do ensaio de digestão in vitro..... | 21 |
| Figura 11: Etapa intestinal do ensaio de digestão in vitro..... | 22 |
| Figura 12: Fluxo médio de permeado durante o processo de microfiltração/diafiltração..... | 23 |
| Figura 13: Perfil de carotenoides do suco de melancia integral..... | 25 |
| Figura 14: Ponto de máximo da bioacessibilidade..... | 30 |

Lista de Quadros

| | |
|--|----|
| Quadro 1: Teor de sólidos solúveis de diferentes variedades de melancia..... | 24 |
|--|----|

Lista de Equações

| | |
|-----------------|----|
| Equação 1 | 19 |
| Equação 2 | 22 |

Lista de tabelas

| | |
|--|----|
| Tabela 1: Sazonalidade da Melancia..... | 4 |
| Tabela 2: Composição média da melancia:..... | 5 |
| Tabela 3: Caracterização físico-química do suco integral ¹ | 23 |
| Tabela 4: Perfil de Carotenoides do suco integral ^{1,2} | 25 |
| Tabela 5: Caracterização físico-química das amostras de suco de melancia concentrado diafiltrado e liofilizado | 26 |
| Tabela 6: Perfil de Carotenoides dos sucos de melancia concentrado diafiltrado e liofilizado | 27 |
| Tabela 7: Teor de carotenoides totais nas amostras de suco de melancia | 28 |
| Tabela 8: Influência da concentração de óleo na bioacessibilidade dos carotenoides do pó...29 | |
| Tabela 9: Resultados de bioacessibilidade das amostras de suco de melancia..... | 30 |

SUMÁRIO

| | | |
|-----------------|---|-----------|
| 1 | INTRODUÇÃO | 1 |
| 2 | OBJETIVO GERAL | 3 |
| 3 | REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 4 |
| 3.1 | Melancia | 4 |
| 3.2 | Composição química da melancia | 5 |
| 3.3 | Carotenoides | 5 |
| 3.4 | Licopeno | 6 |
| 3.5 | Processos de separação por membranas | 8 |
| 3.5.1 | Microfiltração | 8 |
| 3.5.2 | Diafiltração | 8 |
| 3.6 | Liofilização | 9 |
| 3.7 | Bioacessibilidade e Biodisponibilidade | 9 |
| 3.8 | Fisiologia do Sistema digestório | 11 |
| 3.9 | Ensaio <i>in vitro</i> de bioacessibilidade | 12 |
| 3.10 | Digestão e absorção dos carotenoides | 13 |
| 3.11 | Fatores que afetam a bioacessibilidade de carotenoides | 14 |
| 4 | MATERIAL E MÉTODOS | 17 |
| 4.1 | Material | 17 |
| 4.1.1 | Matéria-prima | 17 |
| 4.1.2 | Reagentes | 17 |
| 4.2 | Métodos | 17 |
| 4.2.1 | Obtenção do suco de melancia | 17 |
| 4.2.2 | Microfiltração e diafiltração | 17 |
| 4.2.3 | Liofilização | 17 |
| 4.2.4 | Teor de sólidos solúveis | 19 |
| 4.2.5 | Teor de sólidos totais | 19 |
| 4.2.6 | pH | 19 |
| 4.2.7 | Acidez total titulável | 19 |
| 4.2.8 | Teor e perfil de carotenoides totais | 19 |
| 4.2.9 | Ensaio preliminares de bioacessibilidade | 20 |
| 4.2.10 | Determinação da bioacessibilidade | 20 |
| 4.2.10.1 | Fase oral | 21 |
| 4.2.10.2 | Fase gástrica | 21 |
| 4.2.10.3 | Fase intestinal | 21 |
| 4.2.10.4 | Preparo da fração micelar | 22 |

| | | |
|----------|--|----|
| 4.2.10.5 | Quantificação dos carotenoides da matriz antes da digestão <i>in vitro</i> | 22 |
| 4.2.10.6 | Extração da fração micelar | 22 |
| 4.2.11 | Análise estatística dos dados | 22 |
| 5 | RESULTADOS E DISCUSSÃO | 23 |
| 5.1 | Avaliação do processamento contínuo de microfiltração/diafiltração para obtenção do suco concentrado diafiltrado | 23 |
| 5.2 | Avaliação do suco integral de melancia | 23 |
| 5.3 | Avaliação das amostras de suco de melancia processadas por membranas e liofilização | 25 |
| 5.4 | Quantificação dos carotenoides da matriz antes da digestão <i>in vitro</i> | 27 |
| 5.5 | Ensaio preliminar | 28 |
| 5.6 | Influência da concentração de óleo na bioacessibilidade dos carotenoides na amostra liofilizada | 29 |
| 5.7 | Bioacessibilidade das amostras | 30 |
| 6 | CONCLUSÃO | 32 |
| 7 | BIBLIOGRAFIA | 33 |

1 INTRODUÇÃO

A melancia (*Citrullus lanatus*) é um fruto de grande importância econômica e social. Originária da África, a fruta encontrou no Brasil condições muito boas para o seu desenvolvimento, sendo plantada em praticamente todas as regiões do país. Atualmente, o Brasil ocupa posição de destaque na produção mundial com uma produtividade média de 2,1 mil toneladas/ano. Entretanto, vários fatores podem atuar para a ocorrência de perdas causando queda na produtividade e prejuízo para os produtores (IBGE, 2014).

Além do ataque de fungos e doenças fisiológicas, a ocorrência de frutos fora do padrão para consumo *in natura* também é uma fonte de perdas ainda no campo. Aproximadamente 20 % da quantidade produzida é rejeitada devido a defeitos superficiais ou deformidades, não atendendo assim aos padrões de consumo do mercado, e, conseqüentemente, contribuindo para um aumento na geração de resíduos.

Nos últimos anos, tem sido crescente a preocupação da população em relação à sua qualidade de vida, o que vem se refletindo em mudanças no hábito alimentar das pessoas, levando-as à procura por alimentos que ajudem na promoção da saúde e prevenção de certas doenças.

Essa procura por uma alimentação mais saudável desencadeou um aumento no consumo de frutas, vegetais e seus produtos derivados de forma que a fruticultura tem sido vista como uma atividade importante para o agronegócio brasileiro.

Uma alimentação equilibrada fornece, além dos nutrientes essenciais, alguns compostos químicos que geram reações benéficas à saúde auxiliando na prevenção e redução de doenças. Essas substâncias são conhecidas como compostos bioativos e estão presentes em uma variedade de alimentos como frutas, verduras, legumes e cereais integrais.

A melancia tem sido apontada como uma importante fonte de licopeno, pigmento responsável pela coloração vermelha e considerado o antioxidante mais potente dentre os carotenóides, sendo este capaz de neutralizar moléculas de oxigênio singlete e outras moléculas oxidantes que podem prejudicar as células. A propriedade antioxidante do licopeno está relacionada à sua estrutura química, mais especificamente à presença de onze duplas ligações conjugadas ao longo da sua cadeia.

Desta forma, o consumo do licopeno tem sido correlacionado a redução do risco de diversas doenças degenerativas, em especial a degeneração macular, alguns tipos de câncer, principalmente o de próstata e algumas doenças degenerativas.

Em geral, frutos de coloração vermelha tais como goiaba, melancia e tomate são fontes de licopeno. Os teores encontrados nas frutas e vegetais podem variar de acordo com a estação do ano, estágio de maturação, variedade, efeito climático e geográfico, local de plantio, manejo pós-colheita e armazenamento; em geral, quanto mais avermelhado for o alimento, maior será sua concentração de licopeno.

O atual ritmo de vida da população mundial faz com que os consumidores tenham cada vez menos tempo para se dedicar ao preparo dos alimentos. Entretanto, a necessidade de se manter hábitos alimentares saudáveis, aliada ao cotidiano corrido das pessoas faz com que os consumidores exijam cada vez mais alimentos processados próximos ao *in natura* e que também sejam de preparação fácil e rápida. Desta forma tal ponto torna-se um desafio para a indústria de alimentos que necessita de processos mais adequados que minimizem a perda de qualidade nutricional, sensorial e funcional dos alimentos.

Vários fatores podem influenciar o valor nutricional do produto final processado, como a seleção de um método de processamento apropriado e a condição inicial da amostra.

A clarificação de sucos de frutas e bebidas assim como a recuperação, a pré-concentração e a concentração de compostos de interesse e, ainda, a utilização destes como

pré-tratamentos para outros processos, como a concentração e secagem, tem sido as principais aplicações dos processos que utilizam membranas.

A concentração do suco de melancia é um processo que pode gerar produtos ricos em licopeno. Comparado com os processos convencionais de concentração, a tecnologia de membranas se apresenta como uma boa alternativa para minimizar os efeitos adversos do calor. Em geral, processos de filtração não envolvem mudanças de fase ou altas temperaturas, favorecendo a manutenção das características sensoriais e funcionais do produto. Além disso, dependendo da seletividade da membrana utilizada é possível fracionar ou concentrar diferentes compostos, sendo a microfiltração, ultrafiltração, nanofiltração e osmose inversa os processos que mais vêm sendo utilizados pelas indústrias. Os processos com membranas podem também ser operados na modalidade de diafiltração, onde é possível obter um maior nível de pureza do composto para a mesma razão de concentração devido à eliminação de impurezas menores que a porosidade da membrana.

Dentre os processos de concentração por desidratação, a liofilização também chamada de criodesidratação, é uma operação muito utilizada com o objetivo de reduzir perda na qualidade do produto. É um processo de secagem através da sublimação, necessitando que a zona de temperatura da água esteja abaixo do ponto triplo da mesma, e que a água do produto esteja na fase sólida. É realizado em baixas temperaturas e na ausência de ar atmosférico, sendo capaz assim de minimizar as perdas nutricionais e sensoriais do produto.

Embora alguns processos possam aumentar a concentração dos compostos de interesse, a bioacessibilidade e a biodisponibilidade dos nutrientes são tão relevantes quanto o valor nutritivo dos alimentos do que a concentração dos nutrientes. A bioacessibilidade é definida como a quantidade de um nutriente que é liberado a partir da matriz de alimentos durante a digestão e disponibilizados para absorção mucosa e geralmente é medido usando os procedimentos de digestão *in vitro*. A biodisponibilidade é definida como a fração de um nutriente ingerido que é efetivamente absorvida no intestino e pode ser usado para o armazenamento e processos metabólicos.

Neste contexto, a proposta desse trabalho é obter produtos ricos em licopeno e avaliar a adaptação de um método de digestão *in vitro* para avaliação da bioacessibilidade dos carotenoides em tais produtos.

2 OBJETIVO GERAL

Este trabalho teve como objetivo geral a adaptação de um modelo de digestão *in vitro* para avaliação da bioacessibilidade de carotenoides e a sua aplicação em produtos obtidos a partir de suco de melancia.

Objetivos Específicos

- ✓ Caracterizar a matéria-prima inicial em relação à sua composição química e perfil de carotenoides;
- ✓ Obter uma fração de suco de melancia concentrada em licopeno e com baixo teor de açúcares pelos processos de microfiltração e diafiltração;
- ✓ Obter um pó rico em licopeno pelo processo de liofilização;
- ✓ Caracterizar a fração concentrada em licopeno e o pó em relação à sua composição química e o perfil de carotenoides
- ✓ Avaliar a adaptação do modelo de digestão *in vitro* para avaliação da bioacessibilidade de carotenoides, através da simulação das etapas de digestão oral, gástrica e intestinal humana, e a sua aplicação nos produtos obtidos a partir do suco de melancia.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Melancia

A família das curcubitáceas ocupam um lugar de destaque na agricultura brasileira, sendo seus produtos muito bem aceitos pela população. Neste cenário, a cultura da melancia possui destaque uma vez que é de grande importância econômica e social em muitas regiões do Brasil. Este fruto é muito apreciado por seu agradável sabor e custo atraente (FERRARI *et al.*, 2013)

Originária da África, foi introduzida no Brasil pelos escravos e, posteriormente, alguns cultivares melhorados foram introduzidos em São Paulo. Atualmente, é cultivada em todo território brasileiro, e nas regiões tropicais, subtropicais e temperadas do mundo. Em 2014, o Brasil obteve uma produção de 2,1 milhões de toneladas, sendo os principais estados produtores o Rio Grande do Sul, Bahia, Goiás e São Paulo (IBGE, 2014).

De acordo com Castellane e Cortez (1995), a temperatura influencia diretamente nos processos da planta, desde a germinação até o sabor dos frutos. Para que não haja problemas no seu desenvolvimento, o aconselhável é que a temperatura fique em torno de 20 a 30°C.). Um clima quente e seco favorece a formação de frutos de melancia com excelentes qualidades organolépticas. Ao contrário, em condições de umidade relativa do ar alta e baixa insolação, os frutos formados são de má qualidade (EMBRAPA, 2010). A Tabela 1 indica a sazonalidade da melancia no Brasil.

Tabela 1: Sazonalidade da Melancia

| Jan | Fev | Mar | Abr | Mai | Jun | Jul | Ago | Set | Out | Nov | Dez |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| *** | *** | *** | ** | * | * | * | * | * | ** | *** | *** |

***grande quantidade no mercado/ **quantidade regular no mercado /*pouca quantidade no mercado
Fonte: CEASA, 2014

O fruto possui formato arredondado ou alongado, com peso variando de 3 a 20 kg. Entretanto, recentemente, destaca-se o surgimento de novos tipos de melancias, as chamadas mini-melancias, entre 1 kg e 2 kg. Isto se deve, principalmente, à exigência do mercado por produtos alternativos, onde o consumidor opta por frutos menores, sem sementes e de qualidade (EMBRAPA, 2010).

Para avaliação da qualidade dos frutos, o teor de sólidos solúveis constitui um importante critério, visto que representa uma medida da concentração de açúcares e outros sólidos diluídos na polpa ou no suco do fruto. Na melancia, o conteúdo de sólidos solúveis varia de acordo com as regiões internas do fruto, ou seja, normalmente a polpa é mais doce no centro que na região mais externa. Outros critérios de qualidade são: firmeza da polpa, acidez titulável, e aparência interna e externa (EMBRAPA, 2010).

Sua coloração pode ser diversificada, com várias gradações de verde, rajadas ou com algumas manchas amareladas. No geral, sua polpa possui coloração vermelha, podendo ser também amarela ou alaranjada dependendo da variedade (FERRARI *et al.*, 2013).



Figura 1: Variação da coloração da polpa da melancia.
 Fonte: FERRARI *et al.*, (2013).

3.2 Composição química da melancia

A melancia desempenha um importante papel na alimentação humana, principalmente nas regiões tropicais, onde seu consumo é elevado. Seu maior consumo se dá através da fruta in natura, mas também pode se apresentar na forma de sucos, geleias e doces (EMBRAPA, 2010). Os frutos de curcubitáceas em geral são ricos em água e açúcares, importante qualidade no melão e na melancia. Por possuir cerca de 90% de água em sua composição, a melancia é muito conhecida por seu poder hidratante e diurético, além de possuir baixo valor calórico, como indica a Tabela 2 (EMBRAPA, 2010).

Tabela 2: Composição média da melancia:

| Constituinte | Teor (%) | Vitaminas | Teor (mg) | Minerais | Teor (mg) |
|--------------|----------|-----------------|-----------|----------|-----------|
| Água | 91 | Tiamina | 0,08 | Cálcio | 8 |
| Gordura | 0,43 | Riboflavina | 0,02 | Fósforo | 9 |
| Proteína | 0,62 | Niacina | 0,2 | Potássio | 116 |
| Carboidrato | 7,18 | Ácido Ascórbico | 9,6 | Magnésio | 11 |
| Fibra | 0,5 | | | Ferro | 0,17 |

Fonte: EMBRAPA (2010)

¹ = Valores expressos por 100g

Seu teor vitamínico é considerado médio, possuindo vitaminas C e do complexo B, sais minerais como ferro, cálcio e fósforo (ALMEIDA, 2003). A coloração vermelha da polpa da melancia é dada pela presença do licopeno, um carotenoide que possui importante ação antioxidante. Já nas cultivares de polpa amarela a pigmentação é em função dos carotenoides β -caroteno e xantofilas (FERRARI *et al.*, 2013).

3.3 Carotenoides

O consumo de frutas e vegetais tem sido fortemente relacionado com à diminuição do risco de doenças degenerativas e vem sendo recomendado por programas governamentais e não governamentais. Entre os possíveis fitoquímicos presentes associados a essa proteção estão os carotenoides (NIIZU; RODRIGUEZ-AMAYA, 2003).

Os carotenoides são pigmentos lipossolúveis responsáveis pela cor de vários alimentos. Podem ser divididos em xantofilas e carotenos. Os carotenos são formados apenas por carbono e hidrogênio. Estes pigmentos possuem coloração que varia do amarelo ao vermelho e são muito utilizados como corantes em alguns alimentos, cosméticos e ração animal. Já as xantofilas contêm pelo menos um derivado oxigenado, como, por exemplo, os grupamentos hidroxí, ceto, epóxi, metoxi e ácido carboxílico (RODRIGUEZ-AMAYA, 2001). A Figura 2 apresenta as principais estruturas dos carotenoides encontrados na natureza.

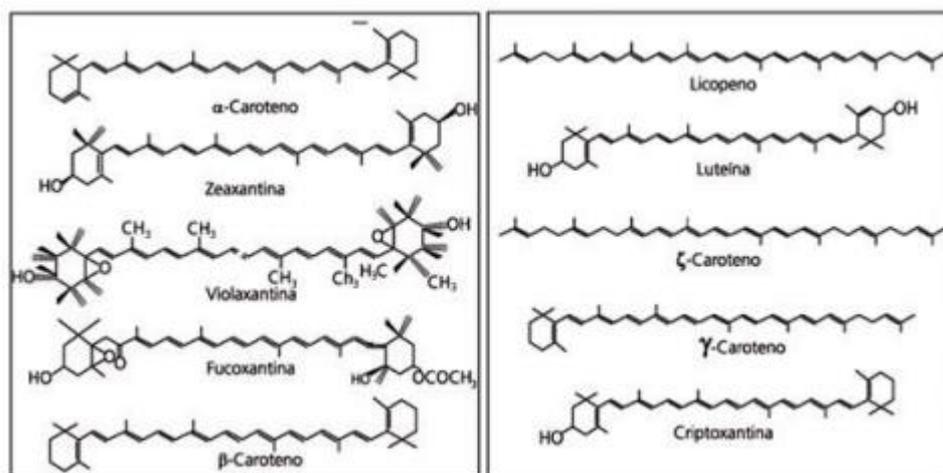


Figura 2: Principais carotenoides encontrados na natureza.
 Fonte: RODRIGUEZ-AMAYA (2001).

Existem cerca de 600 estruturas caracterizadas, porém aproximadamente 50 possuem atividade pró-vitamina A, podendo assim, serem transformados posteriormente em vitamina A e prevenir algumas doenças como cegueira noturna, susceptibilidade à infecção e retardo do desenvolvimento ósseo. Para possuir essa atividade, é necessário que o carotenoide possua um anel β -ionona não oxigenado e uma cadeia lateral terminada em álcool ou aldeído ou que possua algum grupo carbonila. Desses 50 compostos, os três precursores mais importantes para o ser humano são o α -caroteno, β -criptoxantina e β -caroteno, uma vez que são os mais comuns nos alimentos (AMORIM-CARRILHO *et al.*, 2014).

Outra ação biológica que é atribuída aos carotenoides é a atividade antioxidante, sendo relacionados a redução do risco de doenças causadas pela ação dos radicais livres, podendo diminuir a ocorrência de certos tipos de doenças cardiovasculares e cânceres. O licopeno se apresenta como um dos melhores antioxidantes da classe dos carotenoides, justificando assim o fato deste composto ser um dos principais focos nos estudos recentes relacionados à saúde humana (RODRIGUEZ-AMAYA, 2001).

3.4 Licopeno

O licopeno pertence ao grupo dos carotenoides, e confere coloração vermelha a alguns alimentos. Este composto não possui anel β -ionona em sua estrutura, não tendo assim, atividade pró-vitamina A. Entretanto, por possuir onze duplas ligações conjugadas, este composto é tido como um dos mais eficientes antioxidantes, sendo capaz de neutralizar moléculas do oxigênio singlete e outros oxidantes. (RAO; AGARWAL, 1999). O licopeno tem sido correlacionado a uma redução do risco de degeneração macular, alguns tipos de câncer, especialmente o câncer de próstata e algumas doenças cardiovasculares (RODRIGUEZ-AMAYA, 2001). A estrutura do licopeno apresenta-se na Figura 3.

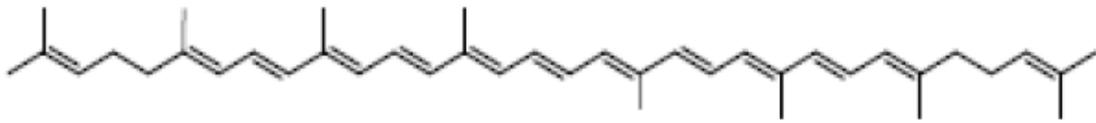


Figura 3: Estrutura do licopeno

Fonte: RAO; AGARWAL (2000).

Sua estrutura acíclica composta de onze duplas ligações conjugadas, dispostas linearmente, faz com que este carotenoide seja extremamente hidrofóbico. Além disso, há também a possibilidade de ocorrerem outras formas geométricas. Porém, devido aos efeitos de impedimento estereoquímico, são encontrados na natureza apenas 72 formas. Existente naturalmente na forma *trans*, a formação do isômero *cis* pode ocorrer durante o aquecimento e exposição à luz, levando a um possível aumento da sua atividade biológica (ROLDÁN-GUTIÉRREZ ; CASTRO, 2007).

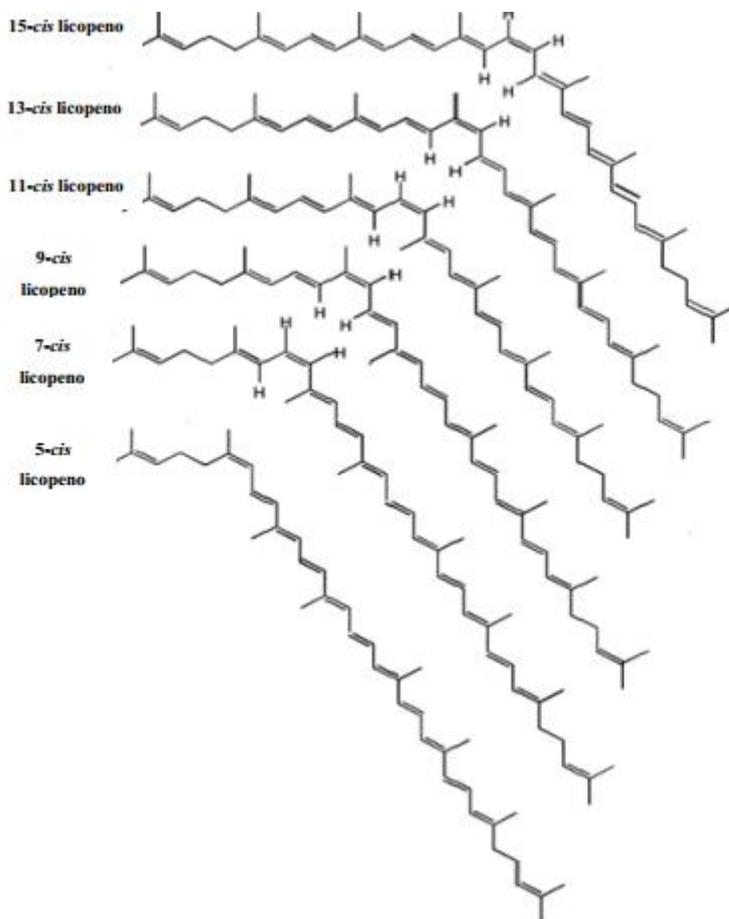


Figura 4: Estrutura dos *cis*-isômeros do licopeno mais encontrados em produtos processados termicamente. Fonte: Adaptado CHASSE *et al.*, 2001.

A quantidade de licopeno nas frutas e vegetais varia de acordo com a estação do ano, estágio de maturação, variedade, efeito climático e geográfico, local de plantio, manejo pós-colheita e do armazenamento; em geral, quanto mais avermelhado for o alimento, maior será sua concentração de licopeno. As maiores concentrações de licopeno estão, em geral, nas cascas dos alimentos fontes, quando comparadas à polpa dos mesmos frutos, sendo sua maior concentração em alimentos produzidos em regiões de climas quentes (COZZOLINO, 2005).

Segundo Moritz e Tramonte (2006) a concentração de licopeno no mamão Tailândia cultivado na Bahia possui o dobro ($40\pm 6 \mu\text{g/g}$) da concentração de licopeno, quando comparado ao mamão cultivado em São Paulo, confirmando assim que pode haver variações de concentrações de licopeno de acordo com o efeito climático e geográfico.

3.5 Processos de separação por membranas

Os processos de concentração de alimentos ocorrem através da remoção de parte da água existente. A maioria dos processos utilizados na concentração de alimentos utiliza calor, e, a intensidade deste, pode levar à alterações na cor, aroma, textura, sabor e perdas nutricionais (CIANCI *et al.*, 2005).

Com base nesse fator, tem sido incrementada a busca por processos não térmicos, que preservem a qualidade dos sucos de frutas. Dentre estes, se destacam os processos de separação por membranas, que por serem conduzidos em temperaturas ambiente, não envolvendo mudança de fase, permitem minimizar eventuais perdas de qualidade dos produtos (CIANCI *et al.*, 2005).

Estes processos compreendem o uso de membranas artificiais, que são barreiras seletivas, buscando o fracionamento dos componentes de uma mistura em função de suas diferentes taxas de permeação. A corrente de alimentação é fracionada, por meio de uma força motriz, que, em grande parte é o gradiente de pressão, em duas correntes distintas: o permeado, que é a fração que é capaz de permear a membrana, e o retido ou concentrado, que é a fração que não permeia a membrana (HABERT *et al.*, 2006). O mecanismo de separação se dá em função da diferença de tamanho entre as espécies presentes na solução a ser permeada e os poros da membrana (PORTER, 1990).

O tamanho dos poros da membrana decresce na seguinte ordem: microfiltração, ultrafiltração e nanofiltração. E, quanto menor o tamanho do poro, maior deve ser a diferença de pressão aplicada para que o processo ocorra. (MULDER, 1991)

3.5.1 Microfiltração

A microfiltração envolve a separação de um grande número de macromoléculas e sólidos em suspensão em uma faixa de 0,02 a 2 μm , as pressões empregadas como força motriz dificilmente ultrapassam 3 bar. Na microfiltração, o solvente e todo material solúvel permeia a membrana, retendo apenas materiais em suspensão. (HABERT *et al.*, 2006).

Uma das principais desvantagens da microfiltração é a diminuição do fluxo do permeado, em função de fatores como a polarização de concentração e ao *fouling*, representado pelo entupimento dos poros da membrana. Tais fatores podem ser minimizados através de pré-tratamentos, como a centrifugação ou tratamento enzimático, que promovam uma diminuição dos sólidos em suspensão, tais como as fibras presentes da polpa (VAILLANT *et al.*, 1999, MATTA *et al.*, 2004, CRUZ, 2008).

3.5.2 Diafiltração

A diafiltração é um modo alternativo de operar sistemas de microfiltração, ultrafiltração e nanofiltração e pode ser entendida como um processo de purificação a volume constante. A operação consiste na adição contínua de solvente puro ou solução tampão no tanque de alimentação com vazão equivalente à do permeado (Figura 4). A diafiltração é utilizada quando se deseja purificar um determinado soluto de uma solução, onde os

contaminantes são compostos de dimensões menores do que as do soluto de interesse (YEE *et al.*, 2007).

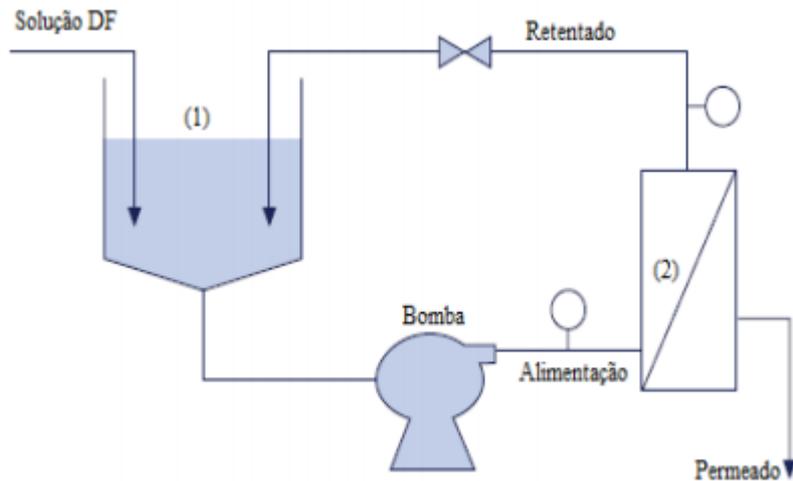


Figura 5: Representação esquemática do processo de diafiltração.

(1) Tanque de alimentação; (2) membrana.

Fonte: LIPNIZKI *et al.* (2002).

A diafiltração está comumente associada a um alto consumo de líquido. Este líquido quase sempre é a água, que deve ser de qualidade, levando-se em consideração a possibilidade de contaminação bacteriológica e conteúdo de solutos orgânicos ou inorgânicos.

3.6 Liofilização

A liofilização ou criosecação ou criodesidratação (“freeze-drying”) constitui um processo de desidratação em que a água, ou outro solvente do produto, previamente congelado, passa diretamente do estado sólido para o gasoso (sublimação), em condições especiais de temperatura e pressão (BOSS, 2004)

Essa tecnologia foi desenvolvida para superar as perdas de compostos responsáveis pelos aromas nos alimentos, os quais são muito suscetíveis às modalidades de processamento que empregam temperaturas elevadas, como a secagem convencional (IBARZ; BARBOSA-CANOVAS, 1999).

Os alimentos liofilizados são produtos que possuem um alto valor agregado por reter grande parte de seus nutrientes originais, uma vez que emprega baixas temperaturas em seu processamento. Entretanto, seu custo é expressivamente maior quando comparado aos produtos secos por outras técnicas (VIEIRA *et. al.*;).

3.7 Bioacessibilidade e Biodisponibilidade

A presença de compostos bioativos e nutrientes nos alimentos vem sendo muito estudada, especialmente a prática de extraí-los a partir de fontes apropriadas, de modo a se tornarem mais puros e concentrados, para consumo direto ou posterior adição como ingrediente em uma matriz alimentícia (KORHONEN, 2002).

Entretanto, poucos são os estudos que avaliam a eficácia do consumo destes compostos na melhora do estado nutricional em humanos. Neste contexto, informações sobre a bioacessibilidade e a biodisponibilidade de nutrientes se fazem necessárias a fim de se avaliar se o aumento na absorção do nutriente será proporcional ao incremento de seu consumo ou mesmo ao incremento de seu conteúdo nos alimentos.

Os termos bioacessibilidade e biodisponibilidade têm sido utilizados indistintamente, mas é interessante salientar que a biodisponibilidade é um conceito mais amplo, visto que para avaliá-la é necessário considerar alguns processos fisiológicos normais, tais como: a liberação, a absorção, a distribuição, o metabolismo e a excreção dos compostos (COZZOLINO, 2005).

Do ponto de vista nutricional, a biodisponibilidade se refere à fração de substâncias ingeridas que estarão disponíveis na circulação sistêmica para a utilização em processos metabólicos e fisiológicos normais ou mesmo para serem armazenadas.

De acordo com Benito e Miller (1998), este termo representa a porcentagem de um determinado nutriente em um alimento ou dieta que o corpo pode realmente utilizar. Este é um conceito-chave para a eficácia nutricional, pois indica que apenas certas quantidades de todos os nutrientes e compostos bioativos em alimentos serão utilizados de forma eficaz pelo organismo (FERNÁNDEZ-GARCÍA; CARVAJAL-LÉRIDA; PÉREZ-GÁLVEZ, 2009).

A determinação da biodisponibilidade de compostos é constituída de três etapas. A primeira é a avaliação da bioacessibilidade, que representa a fração do nutriente que será liberada da matriz do alimento, representando a concentração máxima deste disponível para ser transportada através do epitélio intestinal. A segunda está relacionada ao transporte, onde a fração bioacessível do nutriente será transportada do lúmen para o epitélio intestinal até a linfa e a circulação portal. E, finalmente, a última etapa representa o efeito no qual os nutrientes são metabolizados no epitélio intestinal ou no fígado e será transportada pelo corpo através da circulação sistêmica (OOMEN *et al.*, 2003).

Na década de 80, estudos em nutrição humana constataram que a simples ingestão de um alimento contendo determinado nutriente não garantia sua utilização pelo organismo e que fatores como a estrutura química do nutriente, a quantidade ingerida, a interação entre os vários tipos de nutrientes, a condição fisiológica do indivíduo e o mecanismo homeostático que regula a absorção estavam diretamente relacionados a este processo (TANUMIHARDJO, 2002).

Nesse contexto, tem sido crescente o interesse por metodologias capazes de determinar e prever a bioacessibilidade e biodisponibilidade de nutrientes e compostos bioativos em alimentos de forma que diferentes abordagens *in vivo* e *in vitro* têm sido desenvolvidas como ferramenta para atingir esse objetivo.

Os métodos *in vivo*, executados em humanos ou em modelos animais, abrangem três principais técnicas: estudos de balanço (balanço de massa metabólico, balanço de massa em voluntários de ileostomia e balanço de massa de lavagem gastrointestinal); técnicas de respostas plasmáticas (avaliação da concentração do nutriente no plasma, métodos isotópicos); amostragem do lúmen gastrointestinal e técnicas de perfusão intestinal (FAILLA; CHITCHUMROONCHOKCHAI, 2005).

Embora sejam bastante relevantes do ponto de vista fisiológico, questões éticas, constrangimentos técnicos, custos elevados, variabilidade interindividual e a falta de padrões de referência certificados para comparar os dados entre os estudos realizados são inconvenientes considerados pontos fracos para a realização de ensaios *in vivo* (FERNÁNDEZ-GARCÍA; CARVAJAL-LÉRIDA; PÉREZ-GÁLVEZ, 2009).

Por outro lado, os métodos *in vitro* tem se mostrado substitutos de baixo custo para uma avaliação inicial da bioacessibilidade de vários compostos. Assim como os testes *in vivo*, tais ensaios podem ser realizados por diferentes métodos, sendo que a simulação dos

processos digestivos, a utilização de células intestinais isoladas ou de segmentos intestinais, a utilização de vesículas da membrana basolateral representam os modelos mais utilizados para o estudo de características e regulação dos processos associados com a digestão e absorção (FAILLA;CHITCHUMROONCHOKCHAI, 2005).

Esses ensaios possibilitam o fornecimento de informações sobre a eficiência de cada etapa do processo, ou seja, da digestão, da absorção e dos mecanismos de transporte, além de serem menos trabalhosos e de menor custo quando comparados aos ensaios *in vivo*. Entretanto, apresentam a dificuldade de reprodução do ambiente dinâmico do intestino, além de não considerar o efeito da microflora intestinal e o metabolismo hepático (FERNÁNDEZ-GARCÍA; CARVAJAL-LÉRIDA; PÉREZ-GÁLVEZ, 2009). Esses modelos podem ser considerados como técnicas de *screening* quando um grande número de amostras é submetido ao processo de digestão, além de permitir a identificação de como a eficiência da digestão de nutrientes ou compostos bioativos pode ser afetada pelas condições de digestão (pH e enzimas) e por interações com outros componentes do alimento (fibra, sacarose, gorduras).

3.8 Fisiologia do Sistema digestório

Para se estudar um método de simulação gastrointestinal *in vitro*, é necessário que haja a compreensão da fisiologia do sistema digestório humano. Uma figura esquemática deste sistema é apresentada na Figura 5.

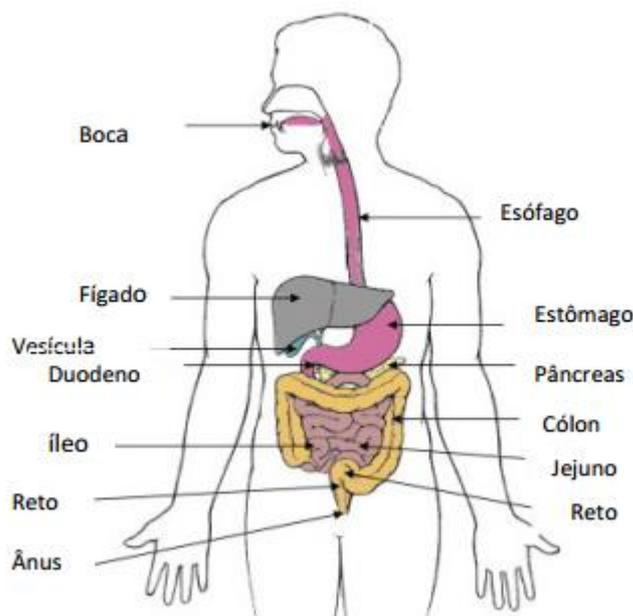


Figura 6: Imagem esquemática do sistema digestivo humano.

Fonte: DEAN; MA, 2007

O processo de digestão se inicia na boca e termina no ânus, e é composto pelo tubo digestivo e glândulas secretoras anexas, as quais produzem enzimas com a função de degradar as macromoléculas presentes para transformá-las em moléculas mais simples (DEAN; MA, 2007).

O alimento ingerido pela boca é degradado na presença da saliva, em pH a 6,5, e, mastigado para ser reduzido em fragmentos menores, aumentando a superfície de contato para a digestão no estômago (DEAN; MA, 2007).

O transporte do alimento do esôfago até o estômago dura alguns segundos, e é realizado através das contrações musculares. As células do estômago secretam o pepsinogênio e ácido clorídrico ($\text{pH} < 2$). A presença de ácido clorídrico tem duas funções: desnaturar as proteínas e transformar o pepsinogênio em pepsina. A pepsina é ativada em pH igual a 2 e digere parcialmente as proteínas, mas não tem ação sobre carboidratos e gorduras (DEAN; MA, 2007)

O intestino delgado é composto por três partes: duodeno, jejuno e íleo. O intestino delgado, é o principal local de absorção dos nutrientes, incluindo gorduras, carboidratos, proteínas, cálcio, ferro, vitaminas, água e eletrólitos. No fígado há a produção da bile, que é inicialmente armazenada na vesícula biliar antes de ser liberada para o duodeno. A bile é composta por sais biliares, pigmentos biliares, fosfolipídios, colesterol e íons inorgânicos. O pâncreas secreta o suco pancreático para o duodeno, constituído de água, bicarbonato e uma série de enzimas digestivas, como amilase, a tripsina e a lipase. A água e os eletrólitos são absorvidos no intestino grosso, e, após a absorção de água e eletrólitos, o material residual passa para o reto. O acúmulo deste material gera uma pressão retal, levando à defecação (DEAN; MA, 2007).

3.9 Ensaios *in vitro* de bioacessibilidade

As avaliações de bioacessibilidade *in vitro* simulam as condições fisiológicas e a sequência de eventos que ocorrem durante a digestão no trato gastrointestinal humano (FERNÁNDEZ-GARCÍA; CARVAJAL-LÉRIDA; PÉREZ-GÁLVEZ, 2009). Esses modelos consistem, em geral, de uma sucessão de biorreatores que recriam as três áreas do sistema digestório (boca, estômago e intestino) em um processo que pode ser resumido em uma rápida digestão com solução saliva, alfa-amilase e mucina, seguida digestão com pepsina gástrica a pH ácido e, finalmente, com pancreatina, lipase e sais biliares em condições ligeiramente alcalinas. A cada etapa, o tempo, a temperatura, o pH e a concentração de sais e enzimas digestivas são cuidadosamente monitoradas.

Esses modelos podem variar no seu modo de operação em função da matriz alimentar avaliada. As principais modificações encontradas foram no número e o tipo de etapas incluídas no processo de digestão (boca, estômago, intestino, delgado, intestino grosso); na composição dos fluidos digestivos utilizados em cada etapa (enzimas, sais, tampões, polímeros biológicos e surfactantes) e, ainda, no tipo de estresse mecânico e escoamento dos fluidos durante o processo de digestão (HUR *et al.*, 2011).

No lugar da saliva são usadas soluções artificiais, em geral, constituídas de alguns sais inorgânicos como NaCl, KCl, Na_2HPO_4 , NaSCN ou KSCN, Na_2SO_4 , além de uréia, mucina e α -amilase. A utilização de ácido úrico, NaOH também tem sido relatada (OOMEN *et al.*, 2003, WITTSIEPE *et al.*, 2001).

As enzimas e outras moléculas biológicas devem fazer referência aos maiores componentes a serem investigados de forma que pepsina, pancreatina, tripsina, quimotripsina, peptidase, α -amilase, lipase, sais biliares e mucina têm sido mais frequentemente utilizadas (MUN *et al.*, 2007; VERSANTVOORT *et al.*, 2005; XING *et al.*, 2008; HUR *et al.*, 2009; BRANDON *et al.*, 2006). A pepsina é uma enzima ácida cuja função é metabolizar proteínas e a pancreatina, secretada no duodeno, é uma mistura de enzimas capazes de metabolizar proteínas, gorduras e carboidratos complexos (GUYTON; HALL, 2006).

O tempo de contato entre a matriz e a solução simuladora empregada em cada etapa também é variável entre os protocolos pesquisados. A fase oral, onde ocorre o contato com a solução saliva, em geral, tem a duração de 5 minutos. Entretanto, trabalhos que utilizaram matrizes com altos teores de carboidratos, relataram 30 minutos para a realização dessa etapa

(OOMEN *et al.*, 2003, KIERS *et al.*, 2000; WITTSIEPE *et al.*, 2001; HUR *et al.*, 2009). As fases gástrica e intestinal variam entre 1 e 2 horas, de acordo com o modelo empregado.

Entretanto, a temperatura de digestão foi de 37 °C, em todos os trabalhos pesquisados.

3.10 Digestão e absorção dos carotenoides

Nos últimos anos, os carotenoides têm despertado um grande interesse à comunidade médica e científica pelo fato de desempenharem papéis fundamentais na saúde humana (UENOJO *et al.*, 2007), entretanto, para que desempenhem suas funções biológicas, assim como outros compostos, necessitam ser absorvidos pelo organismo.

O processo digestivo e a posterior absorção dos carotenoides pelo organismo vão depender do tipo de carotenoide contido no alimento e da forma que estes micronutrientes estarão dispostos no alimento, pois não são encontrados livres nos alimentos, mas associados a proteínas e a uma variedade de estruturas celulares da planta, como fibras e polissacarídeos (KHACHIK *et al.*, 1995).

Sua maior fonte são os tecidos vegetais e, nestes, localizam-se em organelas específicas denominadas cromoplastos e, geralmente, estão protegidos pela parede celular e subestruturas dos cromoplastos (JEFFERY *et al.*, 2012; BRITTON; HELLIWELL, 2008). Podem se apresentar na forma agregada, cristalina ou mesmo associados à bicamada lipídica das membranas e, ainda, a proteínas, como ocorre nos complexos clorofila-carotenoide-proteína, responsáveis pelos processos de fotossíntese (BRITTON; HALLIWELL, 2008).

Os carotenoides liberados da matriz alimentar são incorporados na fase lipídica e, posteriormente, emulsionados em pequenas gotas lipídicas com o auxílio dos ácidos biliares no duodeno. A solubilidade e a localização dos carotenoides na emulsão variam de acordo com a sua polaridade. Os carotenos, por serem compostos apolares, se encontram exclusivamente no núcleo do triacilglicerol da emulsão (região hidrofóbica), e, as xantofilas, distribuem-se preferencialmente na superfície da gordura emulsionada (BOREL *et al.*, 1996). As lipases do lúmen hidrolisam triacilglicerol, fosfolipídeos e ésteres, emulsionando-os totalmente nas gotículas de óleo. Em seguida, os carotenoides que foram emulsionados, sofrem partição pela ação dos sais biliares e lipase, formando pequenos agregados moleculares denominadas micelas mistas, como mostra a Figura 7 (AIRES *et al.*, 1999).

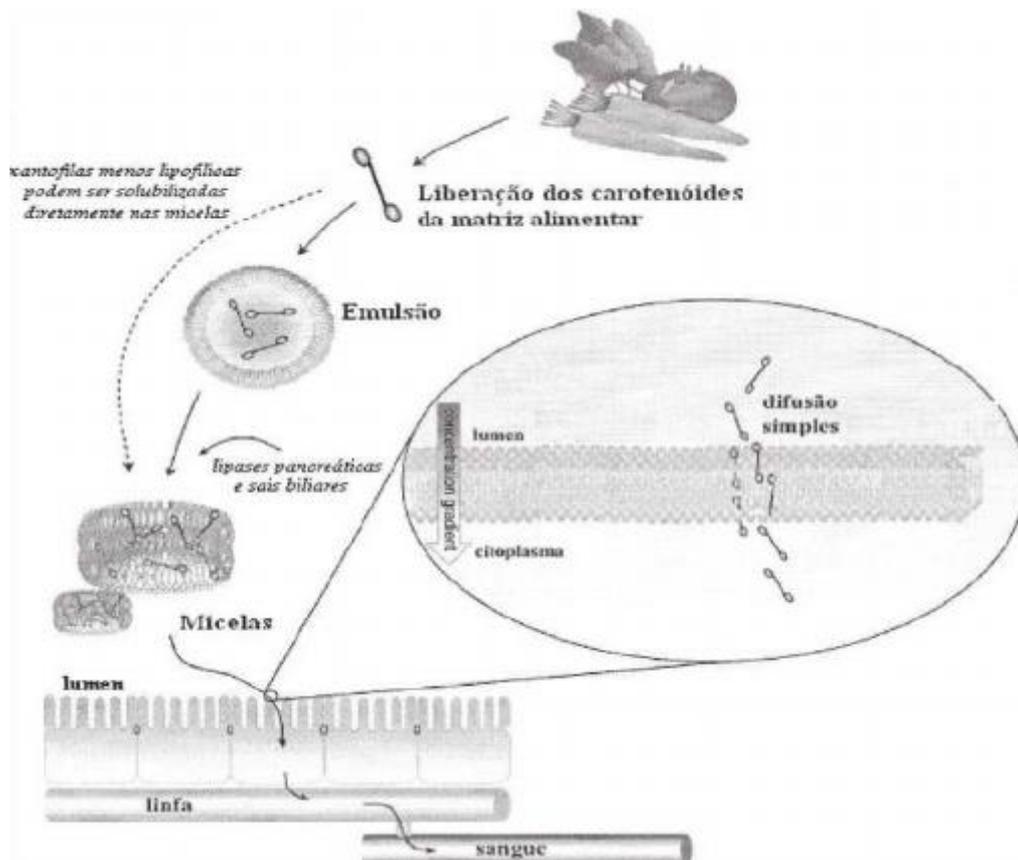


Figura 7: Esquema das principais fases da digestão e absorção dos carotenoides nos enterócitos.

Fonte: YONEKURA & NAGAO (2007)

A incorporação micelar dos carotenoides representa um fator limitante para a sua absorção (YONEKURA; NAGAO, 2007). A absorção dos carotenoides ocorre na mucosa do duodeno, onde ocorre a transferência dos carotenoides das micelas mistas para os enterócitos para que haja absorção dos micronutrientes. Esse processo ainda não é totalmente entendido, acreditando-se que ocorra através de um mecanismo de difusão passiva. As micelas migram para a camada de água da membrana em borda escova, nesta os carotenóides deixam as estruturas micelares e se difundem através da membrana para dentro do citoplasma (PARKER, 1996; YONEKURA; NAGAO, 2007).

3.11 Fatores que afetam a bioacessibilidade de carotenoides

Diversos fatores afetam a bioacessibilidade dos carotenoides, dentre os quais pode-se destacar as características da matriz alimentar onde estão incorporados, o conteúdo lipídico, o tamanho da partícula e o processamento ao qual o alimento foi submetido (ROCK *et al.*, 1997).

Lípidios podem influenciar diretamente a bioacessibilidade dos carotenoides pois, para serem absorvidos no organismo humano, estes necessitam, primeiramente, ser liberados da matriz e dispersos no estômago em uma fase lipídica, onde uma fina emulsão é criada para então serem incorporados nas micelas no intestino delgado (LEMMENS, 2014).

Palmero e colaboradores. (2014) quando avaliaram a eficiência da transferência do β -caroteno e do licopeno para o óleo e para a fase micelar durante a digestão *in vitro* em frações

de tomates e cenoura vermelha observaram que, para ambas as matrizes, a maior quantidade de carotenoides permaneceu na fase oleosa não digerida, sugerindo que uma elevada proporção de carotenoides (64,2 – 51,3% e 44,8 – 55,3% de licopeno e β -caroteno em tomates e cenoura vermelha, respectivamente) foram liberados da fração de cromoplasto, porém não transferidos para a fase micelar, indicando que embora uma quantidade significativa possa ser liberada da matriz, a incorporação nas micelas é limitada.

De acordo com a avaliação *in vitro* realizada por Victoria-campos e colaboradores (2013), a adição de óleo durante a digestão *in vitro* é mais importante para os carotenos que para as xantofilas. Inicialmente avaliou-se a bioacessibilidade, na ausência de óleo e, neste experimento, as xantofilas de pimentas estavam 8 vezes mais bioacessíveis que o β -caroteno. Porém, em condições em que o óleo estava presente, essa relação foi reduzida, estando a xantofila 2,5 vezes mais bioacessível que o β -caroteno.

A importância da ingestão de gordura para a absorção dos carotenoides já é um consenso entre os pesquisadores. Entretanto, resultados controversos sobre o efeito do grau de saturação e do comprimento da cadeia dos ácidos graxos na biodisponibilidade dos carotenoides ainda têm sido publicados (CLARK *et al.*, 2000; HUR *et al.*, 2009; HUO *et al.*, 2007). Huo e colaboradores, (2007) sugeriram que a bioacessibilidade aumenta mais pelo consumo de triacilglicerol de cadeia longa do que pela ingestão de triglicerídeos de média e curta cadeias. Esses resultados foram corroborados por Colle e colaboradores (2012) que verificaram um aumento na bioacessibilidade do licopeno em tomate quando utilizaram óleo de girassol, óleo de oliva e manteiga de cacau. Esse comportamento foi atribuído a altas frações dos ácidos graxos C18, C18:1 e/ou C18:2 presentes nesses lipídios. Por outro lado, o óleo de coco, de palma e de peixe, com quantidades consideráveis de ácidos graxos C12 e C16 resultaram em menores valores de bioacessibilidade.

Outro fator que afeta a bioacessibilidade dos carotenoides é a complexidade da matriz alimentar. Jeffery e colaboradores (2012) relacionaram a bioacessibilidade de carotenoides em diferentes frutas cruas e em purês de legumes com observações microscópicas das matrizes. Estes concluíram que a parede celular e as subestruturas dos cromoplastos são as principais barreiras estruturais naturais para que haja a liberação dos carotenoides durante a digestão dos alimentos.

Vários trabalhos evidenciam que o processamento pode afetar a bioacessibilidade dos carotenoides. Os efeitos do tratamento térmico têm sido relacionados à melhora na bioacessibilidade desses compostos por promoverem a quebra da parede celular e por dissociarem os carotenoides do complexo proteico (COLLE *et al.*, 2010).

Entretanto, Palmero e colaboradores (2014) avaliaram o efeito do tratamento térmico na bioacessibilidade dos carotenoides submetendo frações de cromoplastos isolados de tomate e cenouras vermelhas a temperaturas elevadas (95 °C por 10 min). Após o processo de digestão, os autores verificaram que o processamento térmico pode afetar a liberação dos carotenoides diferentemente em função das características da subestrutura dos cromoplastos. Para frações de tomate o teor de licopeno e β -caroteno na fase insolúvel (não digerido) foi significativamente menor, não sendo observada aumento dos carotenoides na fração micelar em função do tratamento térmico. Não foram observadas diferenças estatísticas na distribuição de carotenoides nas frações de cenoura, indicando que a liberação dos carotenoides da matriz é determinada pelas características das subestruturas de cloroplastos, tais como localização dos carotenoides e associação com outros compostos.

De uma forma geral, Castenmiller e West (1998) resumiram os fatores que podem afetar a biodisponibilidade e bioacessibilidade dos carotenoides com a utilização do termo inglês SLAMANGHI, onde cada letra se apresenta como um fator. Assim, o tipo de carotenoide (Species of carotenoids), a ligação molecular (molecular Linkage), quantidade de carotenóides consumidos em uma refeição (Amount of carotenoids consumed in a meal), a

matriz na qual os carotenóides são incorporados (Matrix), os efeitos da absorção e bioconversão (Effects of absorption), o estado nutricional do indivíduo (Nutrient status of the host), fatores genéticos (Genetic Factors), fatores inerentes ao indivíduo (Host-related factors) e interações matemáticas (Mathematical Interactions) apresentam-se como os principais fatores que interferem na bioacessibilidade e biodisponibilidade.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material

4.1.1 Matéria-prima

Os frutos foram previamente higienizados com uma pré-lavagem em água corrente para remoção de sujidades. A sanitização foi realizada através da imersão dos mesmos em água clorada na concentração de 200 ppm por 15 min e posterior lavagem em mesa de aspersão para retirada do cloro residual.

4.1.2 Reagentes

Os solventes orgânicos utilizados nos experimentos (acetona e éter de petróleo) apresentavam grau cromatográfico. Os sais (KCl, KSCN, NaH₂PO₄, Na₃PO₄, NaCl, CaCl₂) e as enzimas (α -amilase, uréia, pancreatina, pepsina, mucina, lipase e o extrato de bile) foram adquiridos da marca Sigma-Aldrich[®]. Utilizou-se ainda cloreto de sódio grau P.A, sulfato de sódio e sulfato de sódio anidro da marca Tedia, HCl da Merck[®] e água Milli-Q para o preparo das soluções.

4.2 Métodos

4.2.1 Obtenção do suco de melancia

Os frutos foram manualmente cortados, descascados e despulpados em despulpadeira horizontal da marca Bonina 0,25 df, obtendo-se assim o suco integral. O mesmo foi acondicionado em embalagens de polietileno e armazenado em câmara de congelamento a -18 °C por cerca de 3 dias.

4.2.2 Microfiltração e diafiltração

Primeiramente o suco foi submetido à microfiltração conforme descrito por Gomes et al (2011). O processo foi realizado com membrana tubular de α -alumina (α - Al₂O₃), T1-70 (Pall Corporation: Membralox[®] Ceramic Membrane Products, EUA), com diâmetro médio de poros de 0,2 μ m. A microfiltração foi conduzida em regime de concentração, com recolhimento do permeado, até atingir um fator de concentração volumétrico igual a 6.

Posteriormente, o processo de microfiltração foi conduzido em regime de diafiltração para que houvesse a purificação da fração retida, usando água destilada como fluido de lavagem. A fração retida após a diafiltração foi coletada, obtendo-se assim um concentrado diafiltrado rico em licopeno. Foram retiradas alíquotas para posteriores análises.

4.2.3 Liofilização

O extrato, rico em licopeno, foi colocado em bandejas de aço inoxidável e levado à câmara fria a -18°C por 12 h para congelamento. A liofilização foi realizada na amostra previamente congelada em liofilizador modelo Edwards Pirani 50I. Os parâmetros do processo foram: pressão total de -1 atm e temperatura igual -40° C em um ciclo de 30 horas. Para favorecer um melhor manuseio do extrato e preservação do licopeno após a liofilização, o mesmo foi moído, com adição de nitrogênio líquido à amostra, em moinho de facas IKA A11. O pó obtido foi acondicionado em embalagens de alumínio que foram seladas a vácuo, e mantidas em dessecador sob congelamento a -18°C por cerca de 4 meses.

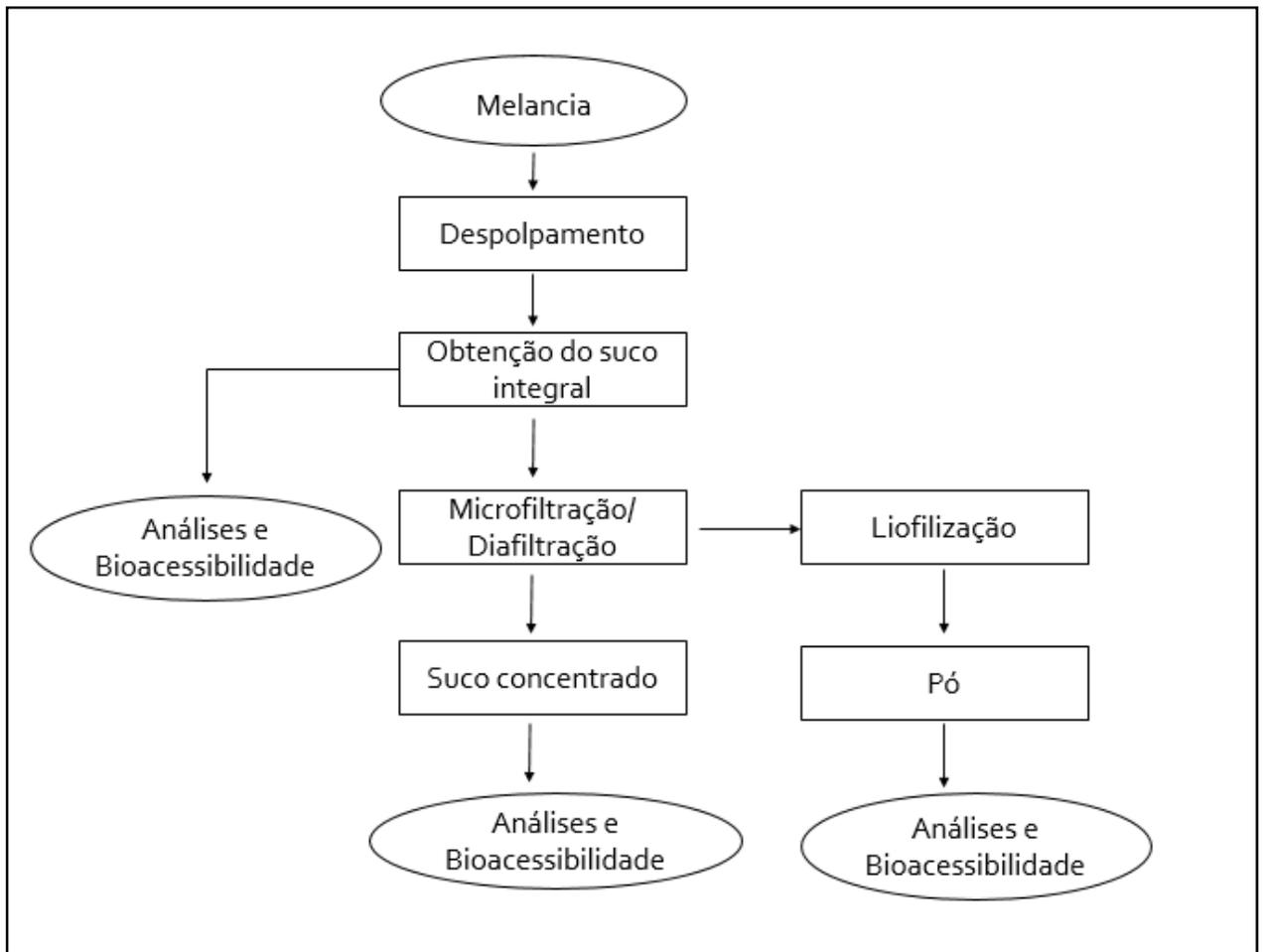


Figura 8: Fluxograma do processamento dos sucos de melancia

4.2.4 Teor de sólidos solúveis

O teor de sólido solúveis foi determinado pela leitura direta em refratômetro do tipo Abbé, modelo Bellingham + Stanley Limited, com escala em graus Brix, segundo método descrito na A.O.A.C (2010).

4.2.5 Teor de sólidos totais

O teor de sólidos totais foi determinado através de metodologia que se baseia na determinação do peso seco obtido pela secagem da amostra em estufa a vácuo a 60°C até obtenção de peso constante (ADOLFO LUTZ, 1985).

4.2.6 pH

O pH foi determinado em pHmetro Metrohm modelo 785 DMP Titrimo, com leitura direta a 25°C, segundo metodologia descrita na A.O.A.C (2010).

4.2.7 Acidez total titulável

A determinação da acidez titulável foi realizada pelo método potenciométrico em titulador automático Metrohm modelo 785 DMP Titrimo, com solução de NaOH na concentração de 0,1 M segundo o método descrito na A.O.A.C (2010)

4.2.8 Teor e perfil de carotenoides totais

Os carotenoides foram extraídos utilizando a metodologia proposta por Rodriguez-Amaya (2001).

Foi utilizada a extração em macroescala para as amostras de suco integral e retido, onde pesou-se, respectivamente, 1,5 g e 0,3 g de amostra em bécher.

Para a amostra em pó, realizou-se a extração em microescala, pesando aproximadamente 0,01g em tubos de microcentrífuga de 2mL, já contendo pequena quantidade de celite. Adicionou-se 1mL de acetona, e a mistura foi macerada com bastão de vidro. Posteriormente, os tubos de microcentrífuga foram centrifugados a 8000 rpm por 2 minutos, e o sobrenadante foi transferido para uma bureta de 25 mL contendo água e éter de petróleo. Adicionou-se acetona ao resíduo do tubo de microcentrífuga e o procedimento de extração foi repetido até que o extrato não exibisse a cor característica dos carotenoides.

Em seguida, realizou-se a lavagem do extrato da bureta, com água Milli-Q, por aproximadamente três vezes, havendo a separação de fases. A determinação do conteúdo de carotenoides totais foi realizada através da leitura da absorvância do extrato, em espectrofotômetro a 470 nm.

A concentração de carotenoides totais (em microgramas por 100 gramas de amostra) foi calculada conforme a equação 1.

$$\text{Concentração } \left(\frac{\mu\text{g}}{\text{g}} \right) = \frac{\text{Abs} \times \text{Dil} \times \text{Vol} \times 10000}{3450 \times \text{ma}} \quad \text{Equação 1}$$

Onde:

Abs.: valor da leitura de absorvância

Vol.: volume do balão volumétrico (mL)

Ma: massa da amostra (g)

O perfil de carotenoides foi analisado por cromatografia líquida de alta eficiência com separação em fase reversa conforme metodologia proposta por Pacheco (2009), sendo a corrida cromatográfica realizada em cromatógrafo líquido modular Waters composto por bomba W600 e injetor 717 com detector de arranjo de diodos (DAD) 996 da Waters® a 450 nm, coluna YMC Carotenoid S-3® (4,6 x 250 mm); fase móvel (A) metanol e (B) éter metil-terc-butílico em eluição gradiente; fluxo 0,8 mL.min⁻¹; temperatura da coluna 33 °C e volume de injeção 15 µL. A quantificação foi realizada por comparação do tempo de retenção e espectro de absorção com a utilização de padrões externos.

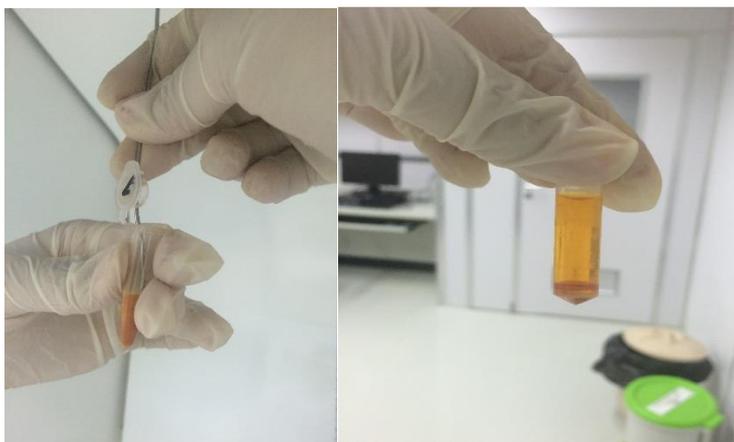


Figura 9: Extração dos carotenoides em microescala

4.2.9 Ensaios preliminares de bioacessibilidade

Os ensaios preliminares de bioacessibilidade foram realizados com suco integral conforme metodologia descrita por Oomen *et al.* (2003) e Failla & Chitchumroonchokchai (2005). Para tal, foi avaliado o efeito da massa de amostra (5g e 10 g), com adição de 5% de óleo de canola no valor da bioacessibilidade.

Para a amostra em pó, a influência da quantidade de óleo adicionado sobre a bioacessibilidade dos carotenoides foi avaliada. Para tal, quantidades de 100%, 150%, 200%, 250% e 300% de óleo de canola em relação à massa de amostra foram testadas.

4.2.10 Determinação da bioacessibilidade

A bioacessibilidade *in vitro* do licopeno foi determinada através da simulação das fases oral, gástrica e intestinal da digestão de acordo com a metodologia reportada por Oomen *et al.* (2003), incorporando adaptações propostas por Failla & Chitchumroonchokchai (2005).

Estipulou-se que seriam pesados 10 g para a amostra de suco integral, 5 g para o suco concentrado diafiltrado e 0,1 g da amostra em pó, seguido da adição de 5% de óleo de canola em relação às massas das amostras de suco integral e concentrado diafiltrado e 250% em relação à massa de amostra em pó.

Todas as amostras foram pesadas em quadruplicata, em tubos Falcon de 50 mL, seguida da adição dos valores de óleo previamente estipulados. Todas as soluções de enzimas foram utilizadas até no máximo 24 horas após o seu preparo.

4.2.10.1 Fase oral

A fase oral foi iniciada com a adição de 7 mL de solução saliva, em cada tubo, contendo α -amilase, mucina e uma mistura de sais (KCl, KSCN, NaH_2PO_4 , Na_3PO_4 , Uréia, NaCl, CaCl_2 , como descrito por Oomen et al. (2003). Os tubos foram transferidos para o banho orbital, a 37°C a 60 rpm por 10 minutos. Após este tempo, os tubos foram transferidos para banho de gelo, a fim de se inibir a ação enzimática.

4.2.10.2 Fase gástrica

Para a fase gástrica, inicialmente adicionou-se solução A (120 mM NaCl, 6 mM CaCl_2 e 5 mM KCl) até a marca de 30 mL de cada tubo proveniente da etapa oral. Em seguida realizou-se agitação em vórtex. O pH da solução de cada tubo foi ajustado para $2,5 \pm 0,1$, utilizando HCl 1M. Após isto, adicionou-se 2mL da solução de pepsina estoque (40 mg/mL HCl 100 mM) em cada tubo. O volume foi ajustado para 40 mL com solução A de modo que a concentração final de pepsina fosse de 2 mg/mL. Em seguida os tubos foram incubados novamente em banho com agitação orbital por 1 h, nas mesmas condições descritas anteriormente. Após este tempo, os tubos foram colocados em banho de gelo, para inibir a ação enzimática.



Figura 10: Etapas oral e gástrica do ensaio de digestão *in vitro*

4.2.10.3 Fase intestinal

Na fase intestinal, ajustou-se o pH dos tubos para $6,0 \pm 0,1$ através da adição de NaHCO_3 1M. Posteriormente, foram adicionados 3 mL de solução estoque de extrato de bile (40 mg extrato de bile/ mL NaHCO_3 100 mM) e 2 mL de solução estoque de pancreatina-lipase (10 mg de pancreatina + 5 mg lípase/ mL NaHCO_3 100 mM), e o pH foi ajustado para $6,5 \pm 0,2$ com a adição de NaOH 1M. O volume foi aferido para 50 mL com a solução A e os tubos foram colocados no banho com agitação orbital por 2 h, nas mesmas condições descritas anteriormente. Após este tempo, os tubos foram transferidos para banho de gelo, para inibir a ação enzimática.



Figura 11: Etapa intestinal do ensaio de digestão *in vitro*

4.2.10.4 Preparo da fração micelar

Para a separação da fração micelar, os tubos retirados do banho de gelo provenientes da etapa intestinal foram homogeneizados em vórtex, sendo transferidos 15 mL para novos tubos de centrifuga, centrifugados a 4000 g por 30 minutos. A fração aquosa foi nomeada como fração micelar (FAILLA & CHITCHUMROONCHOKCHAI, 2005).

4.2.10.5 Quantificação dos carotenoides da matriz antes da digestão *in vitro*

Os carotenoides foram extraídos e quantificados utilizando a metodologia proposta por Rodriguez-Amaya (2001), conforme o item 4.2.8.

4.2.10.6 Extração da fração micelar

A extração dos carotenoides da fração micelar foi realizada através da transferência do conteúdo dos tubos para funil de separação já contendo 10 mL de éter de petróleo. Em seguida, realizou-se a lavagem da fase orgânica com 200 mL de solução de NaSO₄ 2% para eliminar possíveis resíduos de fase aquosa. A fase orgânica foi filtrada em funil com lã de vidro contendo NaSO₄ anidro, e recolhida em balão volumétrico âmbar (FERNANDEZ-GARCIA, MOSQUERA & PÉREZ-GÁLVEZ, 2007). Posteriormente, realizou-se a leitura da absorvância do extrato etéreo a 470 nm em espectrofotômetro.

A bioacessibilidade foi calculada pela eficiência da micelarização, ou seja, a razão entre a quantidade de carotenoides nas micelas e a quantidade presente na amostra inicial no momento do ensaio da bioacessibilidade, como indica a Eq 2.

$$\text{Eficiência de micelarização} = \frac{[\text{Licopeno na fração micelar}]}{\text{Licopeno na Matriz}} \times 100 \quad \text{Equação 2}$$

4.2.11 Análise estatística dos dados

Os resultados foram submetidos ao tratamento estatístico para análise de variância (ANOVA), pelo teste de Tukey com significância de 0,05, por meio do software XLSTAT 7,0.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Avaliação do processamento contínuo de microfiltração/diafiltração para obtenção do suco concentrado diafiltrado

O fluxo médio de permeado do processo está representado pela Figura 10.

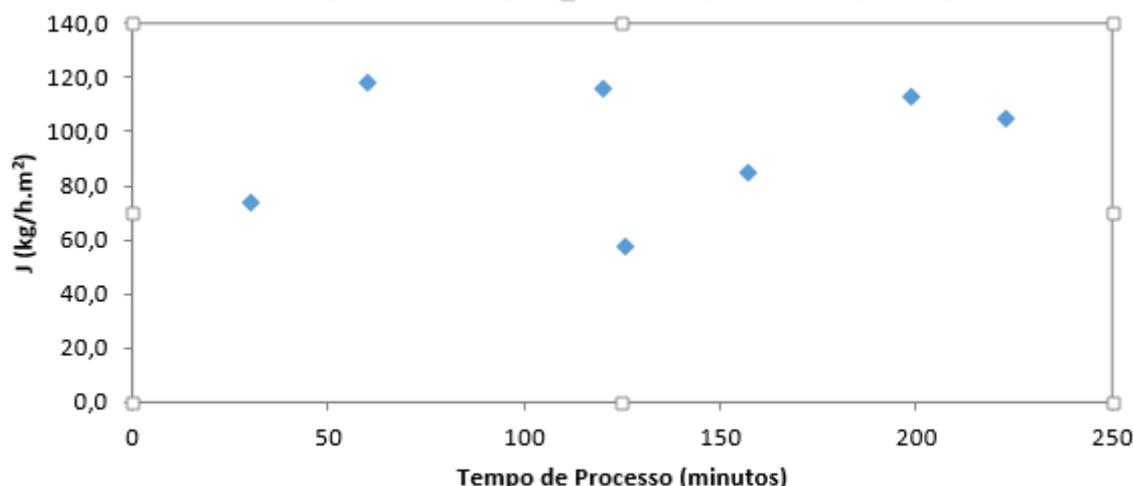


Figura 12: Fluxo médio de permeado durante o processo de microfiltração/diafiltração

Observou-se que o fluxo de permeado apresentou variações durante o tempo de processamento. O fluxo mássico inicial do processo foi de $74,1 \text{ kg.h}^{-1}.\text{m}^{-2}$, com temperatura inicial de 18°C . Após 60 minutos, com o aumento da temperatura do suco, foi observado um aumento deste para $118,2 \text{ kg.h}^{-1}.\text{m}^{-2}$. Entretanto, após 120 minutos de processamento, com fator de concentração do suco igual a 4,7, observa-se uma queda no fluxo, mesmo com a temperatura tendo sido mantida em torno de 30°C , que pode ter sido causada pelo aumento da viscosidade do suco obtida pela concentração do mesmo ao final do processo de microfiltração.

Aos 126 minutos de processo, após atingir um fator de concentração de 5,3, adicionou-se 1 L de água, para o início da diafiltração, levando a um aumento do volume e diminuição da viscosidade, e por consequência, aumento do fluxo. Em seguida, adicionou-se mais 2,5 L de água, aumentando ainda mais o fluxo, obtendo-se um concentrado com 2°Brix , quando o processo foi finalizado.

5.2 Avaliação do suco integral de melancia

A Tabela 3 apresenta a caracterização físico-química do suco integral de melancia.

Tabela 3: Caracterização físico-química do suco integral ¹

| Determinações | Integral |
|--|-----------------|
| Sólidos Totais (g/100g) | $7,41 \pm 0,07$ |
| Acidez Total Titulável (g/100g) | $0,78 \pm 0,02$ |
| pH | $5,52 \pm 0,01$ |
| Sólidos Solúveis ($^{\circ}\text{Brix}$) | $7,00 \pm 0,00$ |

¹= valores médios de 3 determinações com seus respectivos desvios padrão.

O suco apresentou valores de pH, sólidos totais e acidez total titulável próximos aos reportados na literatura (MIRANDA, 2005; GOMES, 2009; OLIVEIRA, 2015). As pequenas variações avaliadas podem ser justificadas por fatores como: estágio de maturação, região de procedência, condições climáticas e de cultivo dos frutos e a variedade estudada (CHITARRA e CHITARRA, 2006).

Em relação ao teor de sólidos solúveis, o suco utilizado nos experimentos apresentou um valor igual a 7° Brix. Vale a pena ressaltar que este é um importante parâmetro de qualidade para o consumo da melancia, pois está diretamente relacionado ao estágio de amadurecimento do fruto e refere-se, principalmente aos açúcares presentes na fruta. O Regulamento (CE) N.º 1862/2004 da União Europeia, que estabelece a norma de comercialização aplicável às melancias, determina que a melancia deve ter um índice refratométrico de no mínimo 8 °Brix. Entretanto, na literatura, são reportados valores que variam na faixa de 7,5 a 12,2 ° Brix, como indica o Quadro 1 (EMBRAPA, 2006; PERKINS-VEAZIE & COLLINS; 2004; ARTÉS-HERNÁNDEZ *et. al.*, 2010).

Quadro 1: Teor de sólidos solúveis de diferentes variedades de melancia.

| Variedade | Sólidos Solúveis Totais (°Brix) | Origem | Autor |
|---------------|---------------------------------|---------------------|------------------------------|
| Crimson Sweet | 7,55 | Brasília | Leão <i>et al.</i> , 2006 |
| Rubi | 7,40 | Brasília | Leão <i>et al.</i> , 2006 |
| Smile | 10,60 | Brasília | Leão <i>et al.</i> , 2006 |
| Fairfax | 8,70 | Brasília | Leão <i>et al.</i> , 2006 |
| Ferrari | 7,77 | Brasília | Leão <i>et al.</i> , 2006 |
| Omaro Yamato | 7,76 | Brasília | Leão <i>et al.</i> , 2006 |
| Crimson Sweet | 9,98 | Rio Grande do Norte | Neto <i>et al.</i> , 2000 |
| Mickylee | 9,8 | Ceará | Azevedo <i>et al.</i> , 2005 |
| Sugar Baby | 7,19 | Pernambuco | Ramos, <i>et al.</i> , 2009 |
| Quetzali | 8,00 | Rio Grande do Norte | Almeida <i>et al.</i> , 2010 |

Os principais carotenoides encontrados no suco *in natura* estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4: Perfil de Carotenoides do suco integral ^{1,2}

| Carotenoides | Teor ($\mu\text{g/g}$) ³ |
|---------------------|---|
| Carotenoides Totais | 52,75 \pm 1,29 |
| β -Caroteno | 6,58 \pm 0,13 |
| Licopeno | 44,81 \pm 1,22 |

¹= Análise realizada por CLAE; ²= Valores médios de 3 determinações; ³ = Resultados expressos em base úmida

Os resultados encontrados indicam que o *trans*-licopeno é o carotenoide majoritário no suco de melancia. Este composto representou 85% dos carotenoides totais do suco de melancia integral perante a 13% de β -Caroteno. Tais valores encontrados reforçam os estudos de Niizu e Rodriguez-Amaya (2003) que evidenciaram o licopeno como o principal carotenoide em amostras de melancia. O teor de licopeno encontrado nesta amostra também vai de encontro à avaliação feita por Kim *et al.* (2014) que encontraram valores que variavam de 23,0 $\mu\text{g/g}$ a 72,0 $\mu\text{g/g}$ para diferentes cultivares de melancia. A Figura 10 apresenta o perfil cromatográfico dos carotenoides da amostra de suco de melancia integral.

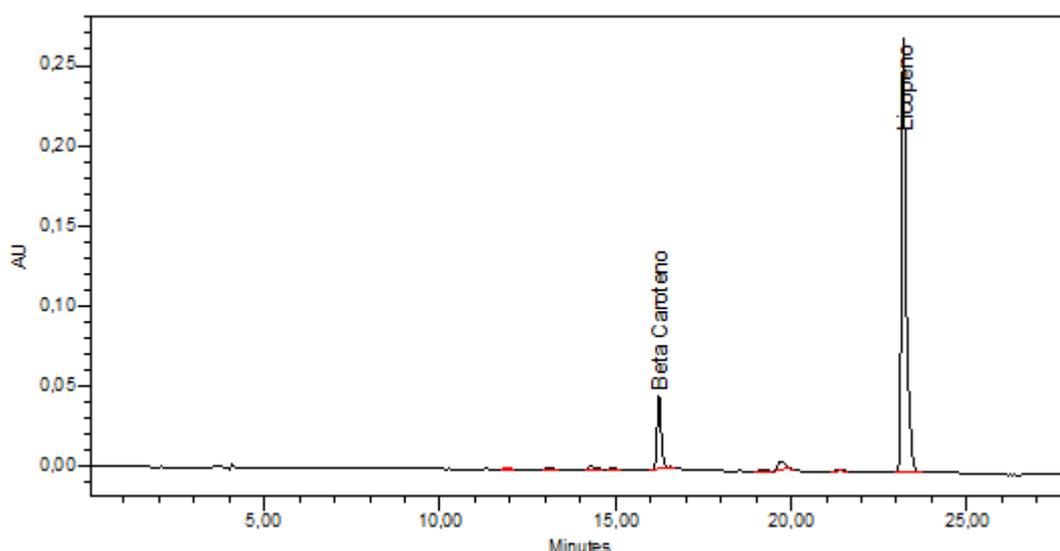


Figura 13: Perfil de carotenoides do suco de melancia integral

O teor de β -Caroteno do suco integral de melancia foi superior aos valores encontrados por Rodriguez-Amaya *et al.* (2008) em melancias procedentes de dois diferentes estados do Brasil. Estes autores encontraram, para este carotenoide, valores de 2,6 $\mu\text{g/g}$, para os frutos de provenientes de Goiás, e, 4,7 $\mu\text{g/g}$ para os de São Paulo.

Tais variações também podem ser justificadas pelos efeitos climáticos e geográficos e pelas diferentes variedades de melancia estudadas.

5.3 Avaliação das amostras de suco de melancia processadas por membranas e liofilização

A Tabela 5 apresenta a caracterização físico-química do suco de melancia concentrado diafiltrado e liofilizado.

Tabela 5: Caracterização físico-química das amostras de suco de melancia concentrado diafiltrado e liofilizado

| Determinações | Integral | Concentrado diafiltrado | Pó |
|---------------------------------|-----------|-------------------------|------------|
| Sólidos Totais (g/100g) | 7,41±0,07 | 1,76±0,14 | 93,62±5,65 |
| Acidez Total Titulável (g/100g) | 0,78±0,02 | 0,57±0,10 | - |
| pH | 5,52±0,01 | 5,46±0,01 | - |
| Sólidos Solúveis (°Brix) | 7,00±0,00 | 2,0±0,00 | - |

O processo de microfiltração seguido de diafiltração foi realizado com o suco de melancia *in natura* até atingir-se um fator de concentração volumétrico igual a 6. O suco concentrado diafiltrado não apresentou grandes variações de pH e acidez total titulável, quando comparado ao suco integral. Entretanto, observou-se uma drástica redução no teor de sólidos totais e sólidos solúveis.

Em relação ao teor de sólidos solúveis, a diafiltração reduziu, aproximadamente 3,5 vezes em relação ao suco de melancia, mostrando que este processo foi eficiente para eliminação de sólidos solúveis, neste caso, representados, principalmente, por ácidos orgânicos e por açúcares. Resultados semelhantes foram encontrados por Oliveira (2015) que, após realizar a diafiltração em suco de melancia obteve um suco concentrado com redução de 71% de frutose, 40% de glicose e 54% de sacarose. Baldasso *et al.* (2011) realizaram um estudo para concentrar a proteína do soro de leite por ultrafiltração em associação com a diafiltração, onde o fator de concentração dos processos foi igual a 6, e, a porcentagem inicial da proteína no soro de leite era de 15%. Ao final dos processos, a proteína representou 71% do soro de leite, indicando assim que os processos aplicados neste estudo foram adequados para a concentração da proteína. Ao mesmo tempo, a diafiltração mostrou-se útil para reduzir o teor de lactose do soro de leite, uma vez que inicialmente sua concentração era de 72%, e, após os processos, representava apenas 29%.

Com relação ao teor de sólidos totais do suco liofilizado, este apresentou um aumento de, aproximadamente, 53 vezes com relação ao suco retido e 13 vezes com relação ao suco integral de melancia. O teor de umidade encontrado (6,38%) vai de encontro ao estudo de Oliveira (2015), que ao microencapsular suco de melancia por *spray drying* usando diferentes materiais de parede, encontrou teores de umidade entre 5,72 e 7,38%.

A Tabela 6 apresenta o perfil de carotenoides dos sucos de melancia concentrado diafiltrado e liofilizado.

Tabela 6: Perfil de Carotenoides dos sucos de melancia concentrado diafiltrado e liofilizado

| Carotenoides | | Integral | Concentrado Diafiltrado | Pó |
|---|------------|--------------------|-------------------------|-------------------------|
| Carotenoides Totais ($\mu\text{g/g}$) | Base úmida | 52,75 \pm 1,29 | 273,30 \pm 16,22 | 13.608,18 \pm 1732,18 |
| | Base seca | 711,92 \pm 17,43 | 15.528,41 \pm 9,22 | 14.535,54 \pm 18,50 |
| β -Caroteno ($\mu\text{g/g}$) | Base úmida | 6,58 \pm 0,13 | 33,99 \pm 3,89 | 1.790,99 \pm 267,23 |
| | Base seca | 88,80 \pm 1,77 | 1.931,44 \pm 2,21 | 1.913,05 \pm 2,85 |
| Licopeno ($\mu\text{g/g}$) | Base úmida | 44,81 \pm 1,22 | 231,55 \pm 9,18 | 10.550,11 \pm 1409,62 |
| | Base seca | 604,72 \pm 16,47 | 13.156,06 \pm 5,21 | 11.269,08 \pm 1505,68 |

Com relação ao teor de licopeno, o suco retido apresentou 5,2 vezes mais que o suco integral de melancia, sendo este muito próximo ao fator de concentração do processo, evidenciando que este composto não permeia a membrana de microfiltração de 0,2 μm . A pequena perda em relação do Fator de Concentração Volumétrico pode ser explicada pelas possíveis reações de oxidação e isomerização durante o processamento. Resultados semelhantes também foram observados por Gomes (2009) quando microfiltrou suco de melancia com membranas cerâmicas de tamanho médio de poros igual a 0,1 μm . Razi *et al.* (2012) estudaram o efeito do fouling ao microfiltrar o tomate, com o objetivo de obter um suco clarificado. Entretanto, estes também observaram que o licopeno ficava retido pela membrana. Os resultados obtidos ratificam a ideia de que é possível concentrar o licopeno para posteriores utilizações pela indústria farmacêutica ou de alimentos.

A amostra liofilizada apresentou um teor de licopeno, aproximadamente 236 vezes maior que o suco integral. Os resultados mostram, ainda uma retenção de 93,6 %, 99,05% e 85,66% de carotenoides totais, β -caroteno e licopeno, respectivamente, após o processo de liofilização. Os resultados são contrários aos observados por Oliveira (2015) que, ao microencapsular suco de melancia por *spray drying* utilizando amido modificado, maltodextrina e goma arábica como agentes encapsulantes, obteve retenções de licopeno iguais a 24,1%, 31,0% e 39,6%, respectivamente. Uma vez que o licopeno é um composto muito sensível ao calor, a maior retenção deste observada na liofilização pode ser explicada pela baixa temperatura (-40°C) do processo. Vale a pena ressaltar que a secagem do suco concentrado diafiltrado foi realizada sem a adição de material de parede, evidenciando a eficiência do processo para obtenção do produto em pó.

5.4 Quantificação dos carotenoides da matriz antes da digestão *in vitro*

Devido à pequena quantidade de suco *in natura* para posteriores ensaios, foi necessário realizar a obtenção de nova amostragem através da higienização e despulpamento de novos frutos de melancia. Ao final, avaliou-se o teor de carotenoides desta nova amostra, que apresentou uma concentração superior à que havia sido analisada anteriormente, e o teor de carotenoides totais nas amostras no momento da realização dos ensaios de bioacessibilidade variaram de 67,09 ($\mu\text{g/g}$) a 3964,27 ($\mu\text{g/g}$), como apresenta a Tabela 7.

Tabela 7: Teor de carotenoides totais nas amostras de suco de melancia

| Amostra | Concentração na amostra ($\mu\text{g/g}$) |
|--------------------------------|---|
| Integral | $67,09 \pm 7,65$ |
| Concentrado diafiltrado | $258,30 \pm 16,3$ |
| Pó | $3964,27 \pm 389,21$ |

O produto em pó obtido pelo processo de liofilização foi acondicionado em embalagens de alumínio e armazenados em dessecadores a -18°C sob congelamento por cerca de três meses até a realização dos ensaios de bioacessibilidade. Porém, os resultados mostram que, mesmo em tais condições de estocagem, não foi possível evitar a perda de cerca de 71% dos carotenoides totais presentes na amostra, quando comparada à primeira quantificação. Essa deterioração pode ser justificada pela possível entrada de oxigênio nas embalagens durante o armazenamento, mesmo com a estocagem em dessecadores. O fato de não ter sido utilizado nenhum material de parede na liofilização, também pode ter favorecido a oxidação dos carotenoides da amostra em pó. Ainda assim, o teor de carotenoides da amostra liofilizada continuou bem mais elevado do que nas outras amostras.

5.5 Ensaios preliminares

Estes ensaios foram realizados a fim de estipular a massa de amostra a ser utilizada nos ensaios de bioacessibilidade, que permitisse a leitura de absorvância na faixa de 0,2 a 0,8 em espectrofotômetro. De acordo com Botelho (2011), massas superiores a 15 g de amostra dificultam a homogeneização durante o ensaio e, conseqüentemente a extração dos carotenoides de sua matriz. Foram avaliadas então as massas de 5g e 10 g de suco integral.

Nos testes realizados com 5 g de amostra, não se obteve leitura de absorvância, impossibilitando a quantificação dos carotenoides. Entretanto, ao dobrar-se a quantidade de amostra, ou seja, quando se utilizou 10g, foi verificado uma leitura de absorvância na faixa de 0,3, optando-se, assim, pelo uso desta massa para avaliação do suco integral.

Por considerar a leitura obtida muito próximo da faixa inferior recomendada para leitura de absorvância em espectrofotômetro, e por não ser indicado a utilização de massas maiores de amostra, optou-se por aumentar a concentração dos carotenoides dos sucos por meio de processos de concentração por membranas, seguido de liofilização.

Os carotenoides são compostos lipossolúveis e são absorvidos de maneira semelhante aos demais lipídios presentes na dieta, necessitando da formação de micelas na luz intestinal para garantir sua solubilização. Em função disto, fez-se necessário adicionar uma fonte lipídica ao meio, pois a formação das micelas mistas é dependente da presença de gordura na digestão.

Optou-se pelo uso do óleo de canola uma vez que, em estudo realizado por Huo e colaboradores (2007), ao avaliar a adição de óleos comerciais (canola, cártamo e coco), foi verificado que o óleo de canola e cártamo apresentaram melhor eficiência de micelarização quando comparados ao óleo de côco. Os autores atribuíram este comportamento pela presença de ácidos graxos de cadeia longa (C18) em sua composição, além disso, este trabalho também mostrou que não houve diferença significativa na micelarização dos carotenoides em função do grau de insaturação dos ácidos graxos C18. No óleo de canola há a predominância de tais ácidos graxos, como o oleico (C18:1) e o linoleico (C18:2), justificando assim o seu uso no presente estudo.

Em relação à quantidade de óleo adicionado, utilizou-se 5% p/p para as amostras de suco integral e de suco retido (Giori, 2010). Entretanto, ao utilizar-se a mesma proporção para

a amostra em pó, não foi possível determinar a bioacessibilidade da mesma. Tal fato pode ser justificado pela quantidade insuficiente de óleo para solubilizar o alto teor de carotenoides presentes na amostra. Dessa forma, julgou-se necessário avaliar a influência da concentração de óleo na bioacessibilidade dos carotenoides da amostra liofilizada. E, para tal, o teor de óleo a ser adicionado foi calculado a partir de uma correlação entre o teor de sólidos totais e carotenoides da amostra de suco integral e da amostra liofilizada. Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 8.

5.6 Influência da concentração de óleo na bioacessibilidade dos carotenoides na amostra liofilizada

Os resultados da bioacessibilidade dos carotenoides da amostra liofilizada em função da concentração de óleo adicionado estão apresentados na Tabela 8.

Tabela 8: Influência da concentração de óleo na bioacessibilidade dos carotenoides do pó

| Amostra | % de Óleo adicionada (p/p) | Concentração na micela (µg/g) | Bioacessibilidade (%) |
|--------------------|-----------------------------------|--------------------------------------|------------------------------|
| Liofilizada | 100 | 22,24 ± 4,32 | 0,56 ^d ±0,11 |
| | 150 | 26,83 ± 4,54 | 0,68 ^{c,d} ±0,12 |
| | 200 | 40,63 ± 2,11 | 1,03 ^b ±0,05 |
| | 250 | 54,25 ± 5,45 | 1,37 ^a ±0,04 |
| | 300 | 34,50 ± 2,37 | 0,87 ^{b,c} ±0,06 |

Letras iguais na mesma coluna, são consideradas iguais com significância de 95% pelo teste de Tukey.

¹ = valores médios de 4 determinações com seus respectivos desvios

A adição de 100% e 150% de óleo à amostra liofilizada não exerceu efeito significativo no aumento da bioacessibilidade dos carotenoides, obtendo-se, nestas condições, os menores valores encontrados. Tal comportamento pode ser justificado pela baixa quantidade de óleo, que provavelmente não exerceu efeito satisfatório sobre a solubilização dos carotenoides na micela.

Em contrapartida, observou-se que um pequeno aumento da quantidade de óleo adicionada (de 150 para 200%) foi responsável pelo aumento de cerca de 1,8 vezes da concentração de carotenoides na micela após a simulação da digestão *in vitro*.

A micelarização foi máxima após a adição de 250% de óleo, ratificando que a quantidade de óleo adicionado é um fator importante para a bioacessibilidade de carotenoides.

Entretanto, na presença de 300% de óleo, a eficiência de micelarização foi diminuída, resultando em uma queda da bioacessibilidade. Em função do alto teor de óleo adicionado, a hidrólise dos ácidos graxos da cadeia do triglicerídeo pela ação da enzima pancreatina lipase pode ter sido incompleta, formando uma fase lipídica coexistente com alta afinidade pelos carotenoides, dificultando a formação das micelas. O mesmo comportamento foi observado por Colle e colaboradores (2012) quando avaliaram a influência da concentração do óleo de oliva na bioacessibilidade do licopeno em polpa de tomate crua.

Em função dos resultados obtidos, estipulou-se a concentração de 250% de óleo de canola como a melhor condição para a determinação da bioacessibilidade dos carotenoides do

suco de melancia liofilizado por apresentar o ponto de máximo da eficiência de micelarização, como indica a Figura 12.

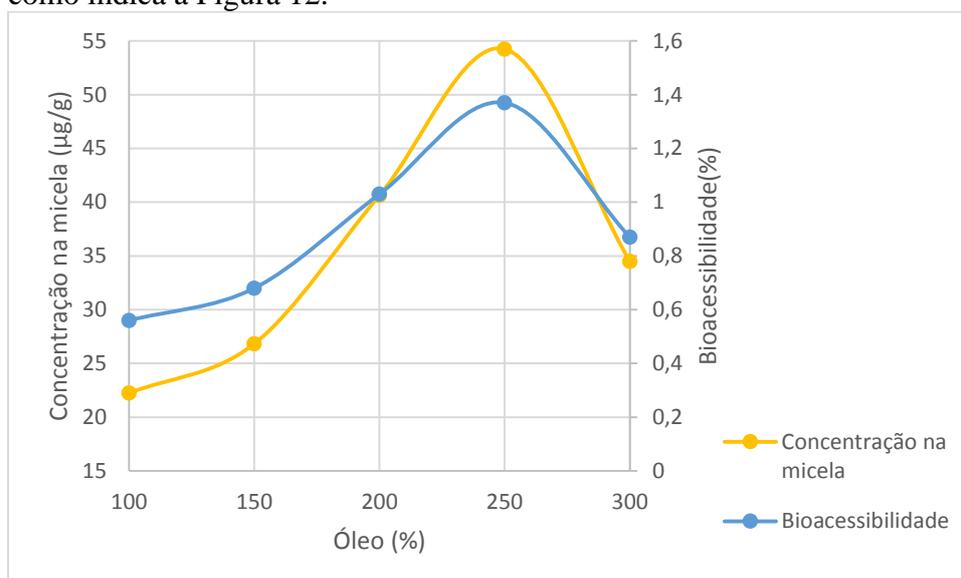


Figura 14: Ponto de máximo da bioacessibilidade

5.7 Bioacessibilidade das amostras

Os resultados de bioacessibilidade dos carotenoides das amostras de suco integral, suco concentrado diafiltrado e suco liofilizado estão apresentados na Tabela 9.

Tabela 9: Resultados de bioacessibilidade das amostras de suco de melancia

| Amostra | Quantidade de Óleo adicionada (%p/p) | Concentração na micela (µg/g) | Bioacessibilidade (%) |
|-------------------------|--------------------------------------|-------------------------------|-----------------------|
| Integral | 5% | 1,33 ± 0,15 | 2,22±0,16 |
| Concentrado diafiltrado | 5% | 0,84 ± 0,15 | 0,36±0,03 |
| Pó | 250% | 56,90 ± 1,58 | 1,44±0,04 |

O suco integral apresentou a maior bioacessibilidade dentre as amostras, tendo uma eficiência de micelarização de 2,22%. Tal resultado vai de encontro ao obtido por Colle *et al.* (2012) que, ao avaliar o licopeno do tomate, observaram uma eficiência de micelarização de 1,9% após a adição de 5% de lipídio.

Embora o suco retido tenha apresentado um teor de carotenoides aproximadamente 4 vezes maior que o suco integral, não foi verificado efeito da concentração sobre a bioacessibilidade, sendo esta, aproximadamente, 6 vezes menor. Tal fato pode ser justificado pelo provável aumento do teor de fibras durante o processo de concentração, as quais influem negativamente na bioacessibilidade dos carotenoides, provavelmente, pela interação destas com os ácidos biliares, o que dificulta a formação das micelas. Riedl e colaboradores (1999) estudaram o efeito da adição de diferentes tipos de fibras como a celulose, pectina, goma guar, alginato, celulose e farelo de trigo na bioacessibilidade destes compostos. Neste estudo, uma refeição padronizada, suplementada com uma mistura de carotenoides era

disponibilizada para mulheres jovens e saudáveis. Os autores concluíram que a adição das fibras levou a uma diminuição da resposta plasmática principalmente do licopeno e da luteína.

Além disso, o ainda alto teor de água do suco concentrado diafiltrado pode ter prejudicado a extração dos carotenoides da matriz devido ao caráter hidrofóbico que estes compostos possuem, favorecendo sua permanência no interior dos cromoplastos.

A amostra em pó apresentou um valor de bioacessibilidade 4 vezes maior que a amostra de suco concentrado diafiltrado, o que pode ser justificado pelo efeito do menor teor de água sobre a extração dos carotenoides da matriz, mencionado anteriormente, associado ao fato da amostra ter sido finamente moída, o que aumentou a superfície de contato desta com o óleo de canola, as soluções enzimáticas e os sais biliares durante as etapas da digestão *in vitro*.

Ainda que a amostra liofilizada e os sucos de melancia *in natura* e retido possuam o licopeno como carotenoide majoritário, não se pode afirmar que somente este composto foi liberado da matriz alimentar para ser micelarizado. De acordo com Failla e Chitchumroonchokchai (2005), quanto mais apolar for o carotenoide, mais difícil será a sua micelarização. Sendo o β -caroteno menos apolar que o licopeno, em função da presença do anel β -ionona nas extremidades da sua cadeia, é possível que neste caso, tenha ocorrido apenas a micelarização deste, mesmo que o seu teor seja pequeno.

Oliveira (2011), ao avaliar a melancia, observou que o licopeno era o carotenoide majoritário, com $35\mu\text{g/g}$ frente a $2,5\mu\text{g/g}$ de β -caroteno. Entretanto, ao avaliar a bioacessibilidade dos carotenoides desta mesma amostra, encontrou valores de 29,7% para o β -caroteno e de 4,3% para o licopeno.

6 CONCLUSÃO

O processo de microfiltração seguido da diafiltração foi capaz de concentrar o licopeno da melancia, fornecendo assim um produto com baixo teor de sólidos solúveis. A liofilização se apresentou como um bom processo de concentração do licopeno, visto que levou a pequenas perdas deste composto.

Os produtos obtidos, bem como o suco *in natura*, foram caracterizados em relação à composição físico-química.

Foi possível obter dois produtos com alto teor de licopeno e baixo teor de açúcares, sendo um líquido e outro em pó, tendo assim, potencial aplicação na indústria farmacêutica ou alimentícia, como corante.

O modelo de digestão *in vitro* foi apropriado para investigar a bioacessibilidade dos carotenoides dos produtos obtidos a partir de suco de melancia, uma vez que viabilizou a quantificação destes compostos na fração micelar após a digestão *in vitro*. Entretanto, análises cromatográficas poderiam ser aplicadas para se avaliar melhor o comportamento destes compostos frente a esta metodologia estudada.

7 BIBLIOGRAFIA

A.O.A.C (Association of Official Analytical Chemists). **Official methods of analysis**, 17 ed. Washington D.C.: AOAC, 2000.

AIRES, M. M. **Fisiologia**. 2ª ed. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara, p. 652- 657, 1999.

ALMEIDA, D. P. F. **A Cultura da melancia**. Porto: Universidade do Porto, 2003. Disponível em: <<http://dalmeida.com/hortnet/melancia.pdf>>. Acesso em: 15 de outubro de 2014.

ALMEIDA, M.L.B. *et al.*, Caracterização físico-química de melancia “Quetzali” durante o desenvolvimento. **Revista Caatinga**, Mossoró, v.23, n.4, p.28-31, 2010.

AMORIM-CARRILHO, K. T. *et al.* Review of methods for analysis of carotenoids. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 56, p. 49–73, 2014.

ARTÉS-HERNÁNDEZ, F. *et al.* Low UV-C illumination for keeping overall quality of fresh-cut watermelon. **Postharvest Biology and Technology**, v. 55, n. 2, p. 114-120, 2010.

AZEVEDO, B.M. *et al.*, Efeitos de níveis de irrigação na cultura de melancia. **Revista Ciência Agronômica**, v.36, n.1, p. 9-15, 2005.

BALDASSO, C.; BARROS, T. C.; TESSARO, I. C. Concentration and purification of whey proteins by ultrafiltration. **Desalination**, v. 278, n. 1–3, p. 381-386, 2011.

BOREL, P. *et al.* Carotenoids in biological emulsions: solubility, surface-to-core distribution, and release from lipid droplets. **Journal of lipid research**, v. 37, p. 250–261, 1996.

BOSS, E.A.; **Modelagem e otimização do processo de liofilização: aplicação para leite desnatado e café solúvel**. Tese (Doutorado em Engenharia Química). Faculdade de Engenharia Química, UNICAMP, Campinas - SP, 2004.

BOTELHO, S. G. **Avaliação da bioacessibilidade de β -caroteno em raízes de mandioca amarela (*Manihot esculenta* Crantz) melhorada *in natura* e o efeito do cozimento e da fritura**. Dissertação (mestrado). Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2001.

BRANDON, E. F. A. *et al.* Consumer product in vitro digestion model: Bioaccessibility of contaminants and its application in risk assessment. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 44, n. 2, p. 161-171, 2006.

BRITTON, A. J. *et al.* Interactive effects of nitrogen deposition and fire on plant and soil chemistry in an alpine heathland. **Environmental Pollution**, v. 156, n. 2, p. 409-416, 2008.

CASTELLANE, P. D.; CORTEZ, G. E. P. **A cultura da melancia**. FUNEP, 1995.

CASTENMILLER, J. J. M.; WEST, C. E. Bioavailability and bioconversion of carotenoids. **Annual Review of Nutrition**, v. 18, n. 1, p. 19-38, 1998.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-Colheita de Frutas e Hortaliças: glossário**. 1. ed. Lavras: Editora de UFLA, 2006. v. 1000. 256 p.

CIANCI, F. C. *et al.*, Clarificação e concentração de suco de caju por processos com membranas. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 25, n. 3, p. 579-583, 2005.

CEASA. **Informativo de mercado**. 2014. Disponível em: <http://www.ceasa.rj.gov.br/ceasa_portal/view/informativoJaneiro2014.pdf>

CLARK, R. M.; YAO, L.; SHE, L.; FURR, H. C. A comparison of lycopene and astaxanthin absorption from corn oil and olive oil emulsions. **Lipids**, v. 35, p. 803-806, 2000.

COLLE, I. *et al.* High pressure homogenization followed by thermal processing of tomato pulp: Influence on microstructure and lycopene in vitro bioaccessibility. **Food Research International**, v. 43, n. 8, p. 2193–2200, 2010.

COLLE, I. J. P. *et al.* The type and quantity of lipids present during digestion influence the in vitro bioaccessibility of lycopene from raw tomato pulp. **Food Research International**, v. 45, n. 1, p. 250-255, 2012.

COZZOLINO, S. M. F. **Biodisponibilidade de Nutrientes**, Barueri - SP. Editora Manole Ltda. Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP, Brasil, 2005.

CRUZ, A. P. G. **Avaliação da influência da extração e microfiltração do açaí sobre sua composição e atividade antioxidante**. 2008. 88 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) – IQ/UFRJ, Rio de Janeiro, 2008.

DEAN, J. R.; MA, R. Approaches to assess the oral bioaccessibility of persistent organic pollutants: A critical review. **Chemosphere**, v. 68, n. 8, p. 1399-1407, 2007.

EMBRAPA (2006). Cultivo da melancia: composição química. Embrapa Semi-Árido. Disponível em: <http://www.cpatsa.embrapa.br/sistema_producao/spmelancia/quimica.htm> Acesso em: 05/12/2015.

EMBRAPA. **Sistema de produção da melancia: socioeconômica**. 2010. Embrapa Semiárido. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Melancia/SistemaProducaoMelancia/socioeconomia.htm>>. Acesso em 03/02/2016.

FAILLA, M L & CHITCHUMROONCHOKCHAI, C. In vitro models as tools for screening the relative bioavailabilities of provitamin A carotenoids in foods. **HarvestPlus Technical Monograph**, 2005.

FERNÁNDEZ-GARCÍA, E.; CARVAJAL-LÉRIDA, I.; PÉREZ-GÁLVEZ, A. In vitro bioaccessibility assessment as a prediction tool of nutritional efficiency. **Nutrition research (New York, N.Y.)**, v. 29, n. 11, p. 751–60, 2009.

FERRARI, G. N. *et al.* A cultura da melancia. **Universidade de São Paulo USP**, p. 35, 2013.

GIORI, F. P. **Adaptação de metodologia de digestão in vitro e determinação da bioacessibilidade in vitro de β -caroteno em três variedades de batata doce de polpa alaranjada.** Dissertação (mestrado). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2010.

GOMES, F.S. **Concentração de licopeno de suco de melancia através de processos de separação de membranas.** Tese (Doutorado). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Departamento de Ciências e Tecnologia de Alimentos, Rio de Janeiro, 2009.

Guyton, A. C.; Hall, J. E.; **Tratado de Fisiologia Médica**, 11th. ed., Elsevier: Rio de Janeiro, 2006.

HABERT, A. C.; BORGES, C. P.; NÓBREGA, R. **Processos de separação por membranas.** Rio de Janeiro, e-papers, 2006.

HUO, T. *et al.* Impact of fatty acyl composition and quantity of triglycerides on bioaccessibility of dietary carotenoids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 8950–8957, 2007.

HUR, S. J.; DECKER, E. A.; MCCLEMENTS, D. J. Influence of initial emulsifier type on microstructural changes occurring in emulsified lipids during in vitro digestion. **Food Chemistry**, v. 114, n. 1, p. 253-262, 2009.

HUR, S., LIM, B., DECKER, E., MCCLEMENTS, D. In vitro human digestion models for food applications. **Food Chemistry**, v.125, p.1-12, 2011.

IBGE. **Produção agrícola municipal – Culturas temporárias e permanentes.** Volume 41. Disponível em < http://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/66/pam_2014_v41_br.pdf> . Acesso em: 06/10/2014.

IBGE. **Produção agrícola municipal – Culturas temporárias e permanentes** Volume39. Disponível em: <[ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Producao_Agricola_Municipal_\[anual\]/2012/pam2012.pdf](ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Producao_Agricola_Municipal_[anual]/2012/pam2012.pdf)> . Acesso em: 06/10/2014

JEFFERY, J. L.; TURNER, N. D.; KING, S. R. Carotenoid bioaccessibility from nine raw carotenoid-storing fruits and vegetables using an in vitro model. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 92, n. May 2011, p. 2603–2610, 2012.

KHACHIK, F. *et al.* Isolation, structural elucidation, and partial synthesis of lutein dehydration products in extracts from human plasma. **Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications**, v. 670, n. 2, p. 219-233, 1995.

KIERS, J. L.; NOUT, R. M. J.; ROMBOUTS, F. M. In vitro digestibility of processed and fermented soya bean, cowpea and maize. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 80, n. 9, p. 1325-1331, 2000.

KIM, S.-J. *et al.* Antioxidant activity of a hydrothermal extract from watermelons. **LWT - Food Science and Technology**, v. 59, n. 1, p. 361-368, 2014.

KORHONEN, H. Technology options for new nutritional concepts. **International Journal of Dairy Technology**, v. 55, n. 2, p. 79–88, 2002.

LEÃO, D. S.; PEIXOTO, J.R.; VIEIRA, J.V. Teor de licopeno e de sólidos solúveis em oito cultivares de melancia. **Bioscience Journal**, v.22, n.3, p. 7-15, 2006.

LEMMENS, L. *et al.* Carotenoid bioaccessibility in fruit- and vegetable-based food products as affected by product (micro)structural characteristics and the presence of lipids: A review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 38, n. 2, p. 125–135, 2014.

LIPNIZKI, F.,BOELSMAND,J., MADSEN F. R., Concepts of industrial-scale diafiltration systems, **Desalination**, v. 144, p. 179-184, 2002.

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

MIRANDA, K. F. **Estudo da concentração de licopeno por ultrafiltração a partir de suco de melancia**. 2005. 149 f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Unicamp, Campinas, 2005.

MULDER, M. **Basic principles of membrane technology**. Kluwer Academic Publishers, p.363,1991.

MUN, S.; DECKER, E. A.; MCCLEMENTS, D. J. Influence of emulsifier type on in vitro digestibility of lipid droplets by pancreatic lipase. **Food Research International**, v. 40, n. 6, p. 770-781, 2007.

NETO, S.E A. *et al.* Qualidade e vida útil pós-colheita de melancia Crimson Sweet, comercializada em Mossoró. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental** ,v.4, n.2, p. 235-239, 2000.

NIIZU, P. Y.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. A melancia como fonte de licopeno. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v. 62, n. 3, p. 195-199, 2003.

OLIVEIRA, C.S. **Aplicação da tecnologia de membranas e microencapsulamento para obtenção de produtos ricos em licopeno a partir de suco de melancia**. Dissertação (mestrado). Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2015.

OOMEN, A G. *et al.* Development of an in vitro digestion model for estimating the bioaccessibility of soil contaminants. **Archives of environmental contamination and toxicology**, v. 44, n. 3, p. 281–7, 2003.

PACHECO, S. **Preparo de padrões analíticos, estudo de estabilidade e parâmetros de validação para ensaio de carotenoides por cromatografia líquida**. Dissertação (mestrado). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Seropédica. 2009.

PALMERO, P. *et al.* Role of carotenoid type on the effect of thermal processing on bioaccessibility. **Food chemistry**, v. 157, p. 275–82, 2014.

PARKER, R. S. Absorption, metabolism, and transport of carotenoids. **The FASEB Journal**, v. 10, n. 5, p. 542–551, 1996.

PERKINS-VEAZIE, P.; COLLINS, J. K. Flesh quality and lycopene stability of fresh-cut watermelon. **Postharvest Biology and Technology**, v. 31, n. 2, p. 159-166, 2004.

PORTER, M. C. Microfiltration In: PORTER, M. C (Ed) **Handbook of industrial membrane technology**. New Jersey, Noyes Publications, 62 – 135, 1990.

RAMOS, A.R.P.; DIAS, R.C.S.; ARAGAO, C.A.. Densidades de plantio na produtividade e qualidade de frutos de melancia. **Hortic. Bras.**, v. 27, n. 4, p. 560-564, 2009 .

RAO, A. V.; AGARWAL, S. Role of lycopene as antioxidant carotenoid in the prevention of chronic diseases: A review. **Nutrition Research**, v. 19, n. 2, p. 305-323, 1999.

RAZI, B.; AROUJALIAN, A.; FATHIZADEH, M. Modeling of fouling layer deposition in cross-flow microfiltration during tomato juice clarification. **Food and Bioproducts Processing**, v. 90, n. 4, p. 841-848, 2012.

RIEDL, J. *et al.* Some dietary fibers reduce the absorption of carotenoids in women. **J Nutr**, v. 129, n. 12, p. 2170-6, 1999.

ROCK, C. L. Carotenoids: Biology and treatment. **Pharmacology and Therapeutics**, v. 75, n. 3, p. 185–197, 1997.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **A guide to carotenoid analysis in foods**. EUA: OMNI Reseach. 64 p. , 2001.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. *et al.* Updated Brazilian database on food carotenoids: Factors affecting carotenoid composition. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 21, n. 6, p. 445-463, 2008.

ROLDÁN-GUTIÉRREZ, J. M.; CASTRO, M. D. L. D. Lycopene: The need for better methods for characterization and determination. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 26, n. 2, p. 163-170, 2007.

TANUMIHARDJO S. A. Factors Influencing the Conversion of Carotenoids to Retinol: Bioavailability to Conversion to Bioefficacy. **Int. J. Vitam. Nutri Res. Bern**, v 72, n 1, 2002.

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

VAILLANT, F. *et al.*, Crossflow microfiltration of passion fruit juice after partial enzymatic liquefaction. **Journal of Food Engineering**, v. 42, p. 215-224, 1999.

VERSANTVOORT, C. H. M. *et al.* Applicability of an in vitro digestion model in assessing the bioaccessibility of mycotoxins from food. **Food and Chemical Toxicology**, v. 43, n. 1, p. 31-40, 2005.

VICTORIA-CAMPOS, C. I. *et al.* Effect of the interaction of heat-processing style and fat type on the micellarization of lipid-soluble pigments from green and red pungent peppers (*capsicum annum*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, p. 3642–3653, 2013.

VIEIRA, A. P. *et al.* Liofilização de fatias de abacaxi: avaliação da cinética de secagem e da qualidade do produto. **Braz. J. Food Technol.**, Campinas, v. 15, n. 1, p. 50-58, 2012.

XING, G. H. *et al.* Bioaccessibility of polychlorinated biphenyls in different foods using an in vitro digestion method. **Environmental Pollution**, v. 156, n. 3, p. 1218-1226, 2008.

WITTSIEPE, J. *et al.* Comparison of different digestive tract models for estimating bioaccessibility of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans (PCDD/F) from red slag “Kieselrot”. **International journal of hygiene and environmental health**, v. 203, p. 263–273, 2001.

YEE, K.; WILEY, D. E.; BAOB, J. Whey protein concentrate production by continuous ultrafiltration: Operability under constant operating conditions. **Journal of Membrane Science**, 290, 125–137, 2007.