



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

ANTONIA ALAÍS DA SILVA CORREIA

MACERAÇÃO ENZIMÁTICA DA POLPA
DE NONI (*Morinda citrifolia* L.)

FORTALEZA

2010

ANTONIA ALAÍS DA SILVA CORREIA

MACERAÇÃO ENZIMÁTICA DA POLPA DE NONI (*Morinda citrifolia* L.)

Dissertação submetida à coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Tecnologia de Alimentos.

Área de atuação: Ciência e Tecnologia de Alimentos

Orientador: Prof. Dr. Raimundo Wilane de Figueiredo

Co-Orientador: Profa. Dra. Isabella Montenegro Brasil

FORTALEZA

2010

A citação de qualquer trecho dessa Dissertação é permitida, desde que seja feita de conformidade com as normas da ética científica.

Antonia Alais da Silva Correia

C837m Correia, Antonia Alais da Silva
Maceração enzimática da polpa de noni (*Morinda citrifolia* L.)/
Antonia Alais da Silva Correia, 2010.
105 fl. ; il. color. enc.

Orientador: Prof. Dr. Raimundo Wilane de Figueiredo
Co-orientador: Profa. Dra. Isabella Montenegro Brasil
Área de concentração: Ciência e Tecnologia de Alimentos
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Ceará, Centro de
Ciências Agrárias. Depto. de Tecnologia de Alimentos, Fortaleza, 2010.

1Noni 2 Polpa de frutas 3 Enzimas pectinolíticas I. Figueiredo,
Raimundo Wilane de (orienta.). II. Brasil, Isabella Montenegro (Co-
orienta.) III. Universidade Federal do Ceará – Programa de Pós-
graduação em Tecnologia de Alimentos. IV. Título.

CDD 664

ANTONIA ALAÍS DA SILVA CORREIA

MACERAÇÃO ENZIMÁTICA DA POLPA DE NONI (*Morinda citrifolia* L.)

Dissertação submetida à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Tecnologia de Alimentos.

Aprovada em 26 de fevereiro de 2010.

BANCA EXAMINADORA:

Dr. Raimundo Wilane de Figueiredo
Orientador
(UFC/CCA/DETAL)

Dra. Isabella Montenegro Brasil
Co-orientadora
(UFC/CCA/DETAL)

Dr. Geraldo Arraes Maia
(UFC/CCA/DETAL)

Dra. Maria Leônia da Costa Gonzaga
(UFC/CCA/DETAL)

Dr. Paulo Henrique Machado de Sousa
(UFC/CCA/DETAL)

*À minha família,
pelo amor, incentivo e paciência.*

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela vida e por me fortalecer a cada dia ajudando a superar as barreiras encontradas no caminho.

A Universidade Federal do Ceará, por intermédio da Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciências e Tecnologia de Alimentos pela oportunidade de realização do Mestrado.

À Embrapa Agroindústria Tropical, pela disponibilidade do laboratório de Bioprocessos para realizar parte deste trabalho e principalmente ao pesquisador Gustavo Adolfo Saavedra Pinto pela grande participação no trabalho.

Ao CNPq, pela concessão da bolsa de estudo.

Ao orientador professor Dr. Raimundo Wilane de Figueiredo, pela oportunidade, apoio e confiança em realizar este trabalho.

À co-orientadora professora Isabella Montenegro Brasil, pela sua contribuição e sugestões dadas.

Às empresas Novozymes Latin America Ltda e Quest International Ltda pelo fornecimento das preparações enzimáticas.

A Andréa Cardoso de Aquino pela amizade, orientação e enorme colaboração para o desenvolvimento deste trabalho.

A professora Raquel Miranda do Departamento de Bioquímica, pela disponibilidade do Laboratório para realização da maceração enzimática.

A Dra. Leônia, pelo auxílio e por estar presente em boa parte deste trabalho incentivando e dando um jeito para tudo.

Ao Dr. Paulo Henrique por tirar as dúvidas no laboratório e pelas sugestões dadas.

Ao professor Geraldo Arraes Maia, pelo apoio e contribuição na correção do abstract.

A professora Elisabeth Cunha pela disponibilidade do Laboratório de carnes e aos funcionários, Luiz e Rôse, pela grande ajuda nas análises de composição centesimal.

Ao Paulo Mendes, secretário da coordenação do mestrado, pelos momentos de descontração e pelos serviços prestados.

A amiga Virlane Kelly pela companhia desde a graduação, sempre ajudando e incentivando com bastante entusiasmo.

A todos do Laboratório de Bioprocessos da Embrapa Agroindústria Tropical: Andréa, Cyntia, Adriana, Natália Lima, Natália de Freitas, Janaína, Myrela, Virna, Leise, Monique, Tigressa e Renata Débora.

Aos funcionários do Laboratório de Frutas e Hortaliças, em especial para a Dona Hilma que se tornou uma amiga, pelas conversas e pelo incentivo quando apareciam as dificuldades e os problemas.

A toda a turma do Mestrado em Tecnologia de Alimentos 2008: Ana Cristina, Ana Erbênia, Ana Valquíria, Carlos Eliardo, Cristiane Pereira, Geirla Jane, Giovana Matias, Isabel Moreira, Jamile Coutinho, Rafaela Temóteo, Roberta Lopes, Simone Lopes, Suelane Medeiros, Josália Liberato e Priscila Ximenes. Em especial, aos amigos Rafaela, Eliardo e Suelane pelo apoio, incentivo, companhia, ajuda e pela boa convivência nestes dois anos de mestrado.

A todos do Laboratório de Frutas e Hortaliças: Alessandra, Aline, Ana Valquíria, David, Denise, Eliardo, Fátima, Geirla, Giovana, Jorgiane, Larissa, Leônia, Natália, Paulo Henrique, Rafaela, Thiago e Virlane.

A Denise pela companhia no laboratório até mais tarde, pela mão amiga e por sempre estar disposta a ajudar.

Aos meus pais Lourdes e Ailson Correia, pela educação e por estarem presentes em todos os momentos de minha vida sempre me incentivando e apoiando.

Aos meus irmãos Alailson, Allyson e Dalila pelo carinho e companheirismo.

À minha sobrinha Ilana que vivenciou essa etapa da minha vida, não aceitando a minha ausência e sempre alegrando os meus dias.

Ao meu marido Wylson que esteve ao meu lado em todos os momentos desta jornada, pela paciência, compreensão, ajuda e dedicação, sempre.

A minha vó Pepita pelos ensinamentos que ficarão guardados pelo resto da vida.

A todos que torceram por mim ou que contribuíram para a realização deste trabalho, e que de alguma forma eu não tenha citado.

"O mais importante para o homem é crer em si mesmo. Sem esta confiança em seus recursos, em sua inteligência, em sua energia, ninguém alcança o triunfo a que aspira."
(Thomas Wittlam Atkinson)

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da maceração enzimática da polpa de noni, de forma a proporcionar um incremento e viabilização na produção de seus derivados. Foram utilizados frutos de noni (*Morinda citrifolia* L.), provenientes da cidade Horizonte (Ceará-Brasil) e preparações enzimáticas comerciais, cedidas pelas empresas Novozymes e Quest international. O trabalho foi desenvolvido com duas polpas, de lotes distintos, cujas análises foram divididas em duas etapas, experimento 1 e 2. O experimento 1 teve início com a caracterização da polpa de noni *in natura* do lote 1 através de determinações químicas. Em seguida, dez preparações enzimáticas comerciais (Pectinex AR, Pectinex Ultra SP-L, Ultrazym AFP-L, Viscozyme L, Shearzyme 500L, AMG 300L, Citrozym L, Biopectinase CCM, Biopectinase CT e Celluclast) foram caracterizadas quanto às atividades de poligalacturonase, pectinametilesterase, pectinaliase, celulase, xilanase e invertase. O processo de maceração da polpa de noni foi realizado a partir de diversos estudos para a seleção da preparação enzimática comercial ideal, a definição dos parâmetros de tempo, concentração enzimática e razão polpa:água, cujo procedimento baseou-se na quantificação de grupos redutores totais (GRT), consistência e teor de polpa. O experimento 2 teve início com a caracterização da polpa de noni *in natura* do lote 2 por meio de determinações analíticas de ordens químicas e físico-químicas. Em seguida, quatro preparações enzimáticas (Viscozyme L, Termamyl, Ultrazym AFP-L e Pectinex Yield Mach) foram caracterizadas quanto às atividades de poligalacturonases, pectinametilesterases, pectinaliases, amilases, celulasas e xilanases. Foi realizado um planejamento composto central, fatorial, com três variáveis e quatro preparações enzimáticas, estudando a concentração das preparações enzimáticas comerciais, a temperatura e o tempo de incubação. A faixa de estudo das variáveis foi determinada com base no experimento 1, assim como foi selecionado a diluição polpa:água. As condições de 4000 ppm de Viscozyme L, 1,5 hora de tratamento enzimático e diluição polpa:água 1:0,75 apresentaram um nível adequado para a maceração da polpa de noni no experimento 1. No experimento 2, as preparações enzimáticas comerciais Viscozyme L e Ultrazym AFP-L foram mais eficientes na maceração enzimática da polpa de noni, mostrando que a concentração de preparação enzimática e a temperatura de incubação são fatores relevantes na redução do teor de polpa e no aumento dos açúcares redutores, respectivamente.

Palavras-chave: *Morinda citrifolia*, liquefação da polpa, enzimas pectinolíticas.

ABSTRACT

The purpose of this work was to evaluate the effect of enzymatic maceration of noni pulp, in order to provide an increase in the production and viability of their products. It was used noni fruits (*Morinda citrifolia* L.), from of Horizonte (Ceará-Brazil) and commercial enzymatic preparations produced by Novozymes and Quest International. The work was developed with two pulps, of distinct lots, whose analyses had been divided in two stages, experiment 1 and 2. Experiment 1 began with the characterization of the natural noni pulp through chemical determination. Next, ten commercial enzymatic preparations (Pectinex AR, Pectinex Ultra SP-L, Ultrazym AFP-L, Viscozyme L, Shearzyme 500L, AMG 300L, Citrozym L, Biopectinase CCM, Biopectinase CT e Celluclast) were tested with regard to their activities of polygalacturonase, pectinametilsterase, pectinaliase, cellulase, xilanase e invertase. The maceration process of noni pulp was performed based on many studies for selection of the ideal commercial enzymatic preparation, the definition of time, enzymatic concentration, pulp:water ratio. The procedure was based on the quantification of total reduction Groups (TRG), consistency and pulp amount. Experiment 2 began with the characterization of the natural noni pulp through chemical and physicochemical analytical determinations. Then, four commercial enzymatic preparations (Viscozyme L, Termamyl, Ultrazym AFP-L and Pectinex Yield Mach) were characterized with regard to the activities of polygalacturonase, pectin, pectinaliases, amylases, cellulases and xylanases. This was used a central composite planning, factorial, with three variables and four enzymatic preparations, studying the concentration of commercial enzyme preparations, temperature and incubation time. The range of the studied variables was determined based on experiment 1, such as the dilution pulp: water. The conditions of 4000 ppm of Viscozyme L, 1,5 hour of enzymatic treatment, dilution pulp/water 1:0,75 presented an adequate level to the maceration of the noni pulp in experimento1. In experiment 2, commercial enzymatic preparations Viscozyme L Ultrazym AFP-L were more efficient in enzymatic maceration of noni pulp, showing that the concentration of enzyme preparation and incubation temperature are important factors in the reduction in the pulp and increased sugars, respectively.

Key words: *Morinda citrifolia* L, pulp liquefaction, pectinolytic enzymes.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	Planta <i>Morinda citrifolia</i> (A) e suas folhas (B)	20
FIGURA 2	Inflorescência, fruto do noni (A) e frutos de noni fora da planta mãe (B).....	21
FIGURA 3	Noni em diferentes estádios de maturação: Noni verde (A), noni verde amarelado (B), noni amarelo pálido (C), noni translúcido, maduro (D) e noni marrom, em fase de senescência (E).....	23
FIGURA 4	Estrutura da parede celular vegetal, adaptada.....	34
FIGURA 5	Representação esquemática da estrutura convencional (A) e da alternativa recentemente proposta (B) das pectinas.....	38
FIGURA 6	Frutos de noni armazenados em caixa plástica	44
FIGURA 7	Polpa de noni embalada em sacos de polietileno e congelada.....	44
FIGURA 8	Preparações enzimáticas comerciais	45
FIGURA 9	Esquema do tratamento enzimático das amostras maceradas e controle no experimento 1	47
FIGURA 10	Esquema do tratamento enzimático das amostras maceradas e controle no experimento 2.....	51
FIGURA 11	Consistência da polpa de noni diluída (1:1), macerada com 2000 ppm de diferentes preparações enzimáticas, a 30°C por até 4h	66
FIGURA 12	Consistência da polpa de noni diluída (1:1), macerada com 2000 ppm de diferentes preparações enzimáticas, a 30°C por até 4h	67
FIGURA 13	Consistência da polpa de noni diluída em diferentes proporções, macerada com 2000 ppm de Viscozyme L, a 30°C por até 2h.	71
FIGURA 14	Amostra macerada sem diluição 1:0 (A); Amostra macerada diluída 1:0,75 (B); Amostra macerada diluída 1:2 (C)	72
FIGURA 15	Amostra controle diluída 1:0,75 (A); Amostra macerada diluída 1:0,75 (B).....	73
FIGURA 16	Consistência da polpa de noni diluída (1:0,75) macerada com diferentes concentrações de Viscozyme L, a 30°C por até 2h.....	75
FIGURA 17	Efeito da maceração enzimática com a preparação Pectinex Yield Match sobre o teor de polpa (A) e os açúcares redutores totais (B) da polpa de noni ..	84
FIGURA 18	Efeito da maceração enzimática com a preparação Viscozyme L sobre o teor de polpa (A) e os açúcares redutores totais (B) da polpa de noni	86
FIGURA 19	Efeito da maceração enzimática com a preparação Ultrazim AFP-L sobre o teor de polpa (A) e os açúcares redutores totais (B) da polpa de noni.....	88
FIGURA 20	Efeito da maceração enzimática com a preparação Termamyl sobre o teor de polpa (A) e os açúcares redutores totais (B) da polpa de noni	90

LISTA DE TABELAS

1. Evolução da cor e da firmeza do fruto durante o amadurecimento.....	23
2. Características químicas e físico-químicas da polpa de noni	24
3. Planejamento experimental com os níveis das variáveis e os tratamentos avaliados.	50
4. Caracterização da polpa de noni <i>in natura</i> – lote 1.....	62
5. Caracterização das atividades das preparações enzimáticas comerciais (experimento 1)....	64
6. Valores dos açúcares redutores totais (ART) da polpa de noni maceradas com diferentes preparações enzimáticas comerciais.	68
7. Valores do teor de polpa das amostras de polpa de noni maceradas com diferentes preparações enzimáticas comerciais	69
8. Valores de açúcares redutores totais (ART) e teor de polpa das amostras de polpa de noni maceradas com Viscozyme L em diferentes razões polpa:água.....	74
9. Incremento na distância percorrida (em cm) pelas amostras de polpa de noni maceradas com Viscozyme L	76
10. Valores de açúcares redutores totais (ART) das amostras de polpa de noni maceradas com diferentes concentrações de Viscozyme L	77
11. Valores de teor de polpa (%) das amostras de polpa de noni maceradas com diferentes concentrações de Viscozyme L	78
12. Caracterização da polpa de noni <i>in natura</i> - lote 2	79
13. Caracterização das atividades das preparações enzimáticas comerciais (experimento 2) .	81
14. Resultado da regressão linear múltipla para as variáveis e a interação das variáveis na maceração da polpa de noni com Pectinex Yield Match	83
15. Resultado da regressão linear múltipla para as variáveis e a interação das variáveis na maceração da polpa de noni com Viscozyme L	85
16. Resultado da regressão linear múltipla para as variáveis e a interação das variáveis na maceração da polpa de noni com Ultrazym AFP-L	87
17. Resultado da regressão linear múltipla para as variáveis e a interação das variáveis na maceração da polpa de noni com Termamyl	89

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
2.1	Noni (<i>Morinda citrifolia</i> L.)	18
2.1.1	Características da planta	19
2.1.2	Colheita	22
2.1.3	Composição química da polpa	24
2.1.4	Atividade biológica	27
2.1.4.1	Efeito antimicrobiano	27
2.1.4.2	Atividade anticancerígena	28
2.1.4.3	Atividade antioxidante	29
2.1.4.4	Atividade antiinflamatória	29
2.1.4.5	Atividade analgésica	30
2.1.4.6	Atividade cardiovascular	30
2.2	Suco de noni e seu comércio	31
2.3	Processamento de frutas	33
2.4	Parede celular vegetal	33
2.4.1	Celulose	35
2.4.2	Hemicelulose	35
2.4.3	Substâncias pécticas	36
2.5	Enzimas degradantes da parede celular	39
2.5.1	Celulases	39
2.5.2	Hemicelulases	40
2.5.3	Pectinases	40
2.6	Utilização das enzimas de maceração	42
3	MATERIAL E MÉTODOS	44
3.1	Material	44
3.1.1	Matéria-prima	44
3.1.2	Preparações enzimáticas comerciais	45
3.2	Metodologia	45
3.2.1	Experimento 1	45
3.2.1.1	Caracterização da polpa de noni <i>in natura</i> – lote 1	45

3.2.1.2	Caracterização da atividade das preparações enzimáticas comerciais.....	46
3.2.1.3	Maceração enzimática.....	46
3.2.1.3.1	Seleção da preparação enzimática	47
3.2.1.3.2	Avaliação da adição de água.....	48
3.2.1.3.3	Influência da concentração de enzima	48
3.2.2	Experimento 2.....	48
3.2.2.1	Caracterização da polpa de noni <i>in natura</i> – lote 2	48
3.2.2.2	Caracterização da atividade das preparações enzimáticas comerciais.....	49
3.2.2.3	Planejamento experimental.....	49
3.2.2.4	Maceração enzimática.....	50
3.3	Tratamento estatístico	51
3.4	Métodos físico-químicos e químicos	51
3.4.1	pH	51
3.4.2	Umidade	52
3.4.3	Cinzas	52
3.4.4	Acidez total titulável (ATT)	52
3.4.5	Sólidos solúveis totais (SST)	53
3.4.6	Açúcares redutores e totais	53
3.4.7	Atividade de água (AW)	53
3.4.8	Compostos fenólicos	53
3.4.9	Vitamina C.....	54
3.4.10	Proteína	54
3.4.11	Extrato etéreo	54
3.4.12	Amido	55
3.4.13	Pectina, hemicelulose, celulose + lignina	55
3.4.14	Antioxidante	56
3.4.15	Consistência	57
3.4.16	Teor de polpa	57
3.5	Métodos utilizados na caracterização da atividade das preparações enzimáticas	57
3.5.1	Poligalacturonases	58
3.5.2	Pectinametilesterases	58
3.5.3	Pectinaliases	59
3.5.4	Amilases	59
3.5.5	Celulases	60

3.5.6 Xilanases	60
3.5.7 Invertases	60
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	62
4.1 Experimento 1	62
4.1.1 Caracterização da polpa de noni <i>in natura</i> – lote 1	62
4.1.2 Caracterização da atividade das preparações enzimáticas comerciais.....	63
4.1.3 Maceração enzimática	66
4.1.3.1 Seleção da preparação enzimática	66
4.1.3.2 Avaliação da adição de água	70
4.1.3.3 Influência da concentração de enzima	75
4.2 Experimento 2	79
4.2.1 Caracterização da polpa de noni <i>in natura</i> – lote 2	79
4.2.2 Caracterização da atividade das preparações enzimáticas comerciais.....	81
4.2.3 Maceração enzimática	82
5 CONCLUSÕES	92
REFERÊNCIAS	93

1 INTRODUÇÃO

Os consumidores em todo o mundo estão mais conscientes quanto ao consumo de alimentos seguros e funcionais. Há uma preferência por alimentos naturais, mais nutritivos e seguros. Do ponto de vista nutricional, as frutas constituem uma das mais ricas fontes de elementos nutritivos para a alimentação humana. Tal fato contribui para o aumento do consumo de frutas e de sucos.

A evidência científica demonstra que todas as frutas e hortaliças são dotadas de propriedades medicinais, sendo o poder medicinal caracterizado para cada espécie. Mudanças nos hábitos alimentares podem ajudar a reduzir os riscos de desenvolvimento de doenças (PANATO *et al.*, 2007). Assim, os guias alimentares atuais para as populações enfatizam cada vez mais o aumento no consumo de frutas visando a promoção da saúde e a prevenção de doenças (RAMASSAMY, 2006; SORENSEN; BARBEN; STODDARD, 2007). A forte tendência no consumo de frutas *in natura*, assim como de sucos pela população, se deve não só por constituir uma rica fonte de elementos nutritivos, mas também pela cor e sabor desses produtos.

A fruticultura está em expansão e o mercado de frutas exóticas tem ganhado cada vez mais espaço no Brasil, tanto pela procura de alternativas por parte dos produtores, como pela busca de novas opções de frutas pelos consumidores.

A planta *Morinda citrifolia* Linn, mais conhecida como noni, tem sido utilizada durante séculos na medicina tradicional dos povos polinésios. As folhas e especialmente seu fruto são consumidos sob diferentes formas por várias comunidades do mundo (CHAN-BLANCO *et al.*, 2006).

O suco de noni está em alta demanda na medicina alternativa devido seus prováveis efeitos antioxidantes e antiinflamatórios no combate de diferentes tipos de doenças como câncer, aterosclerose, diabetes, úlcera e outros (WANG *et al.*, 2002). Entretanto, as evidências científicas para os benefícios do suco dessa fruta ainda são limitadas. O aumento dos produtos derivados como suplementos dietéticos sugere investigações urgentes com relação aos propósitos de controle de qualidade (IKEDA *et al.*, 2009).

Há um grande marketing do suco noni no Brasil (MÜLLER *et al.*, 2007). O fruto foi introduzido recentemente como uma matéria-prima de forte apelo comercial devido a todas as características benéficas a ele atribuídas e os benefícios relacionados ao seu consumo (SILVA *et al.*, 2009). O cultivo do noni é relatado nos Estados do Acre, São Paulo, Pará,

Sergipe e Ceará, mas ainda são poucos os trabalhos de pesquisa desenvolvidos no Brasil com essa espécie.

Consumidores estão mais seletivos e escolhem os alimentos com menos aditivos e conservantes, e que ainda assim, mantenham os sabores dos alimentos e outras características também importantes que atendam às suas expectativas. As enzimas atendem a esta demanda melhorando os processos de produção de alimentos e bebidas de diversas maneiras: a) aumentam o valor nutricional; b) melhoram o sabor; c) reduzem a possibilidade de intolerância (NOVOZYMES, 2009).

Os sucos de frutas contêm colóides que são principalmente polissacarídeos (pectina, celulose, hemicelulose, lignina e amido), proteína, tanino e metais (VAILLANT *et al.*, 2005). Um dos principais problemas encontrados na preparação de suco de fruta é a viscosidade devido principalmente à presença das pectinas (ABDULLAH *et al.*, 2007). As substâncias pécicas ficam suspensas como partículas insolúveis, sendo responsáveis pela consistência, turbidez e aparência dos sucos das frutas, e sua presença causa um aumento considerável na viscosidade do suco, dificultando a filtração, podendo provocar entupimento de filtros e redução da velocidade do processo de filtração, além disso, torna a concentração de sucos muito difícil, devido à dificuldade da retirada do suco celular.

A produção de sucos a partir de frutas polposas apresenta baixo rendimento devido à alta viscosidade das mesmas, o que leva a uma taxa financeira insatisfatória, quando comparada com o rendimento tecnológico de outros frutos. Uma tecnologia deve ser utilizada no processamento destes sucos para minimizar os problemas, no intuito de otimizar o processo com extração máxima de suco para obtenção de produtos com valor agregado. A tecnologia para melhorar o processamento e o aspecto de sucos de frutas dentre outras pode ser o uso de enzimas.

A adição de preparações enzimáticas comerciais, constituídas por pectinases, celulasas, hemicelulasas e amilases, em polpa de frutas resulta na degradação dos polissacarídeos da parede celular, aumentando o rendimento dos sucos, minimizando a geração de resíduos, diminuindo a viscosidade e com isso, facilitando o processo de filtração. Assim, estas enzimas constituem componentes importantes na tecnologia de suco de frutas e devem ser estudadas para otimizar o processo permitindo a viabilização de seu uso.

De acordo com Bui, Bauc e Pettolino (2006) o fruto noni possui 67% de substâncias pécicas no conteúdo de carboidratos totais, além de alto teor de compostos fenólicos e gomas. Desta forma, é imprescindível a aplicação de complexos enzimáticos hidrolíticos.

Existem muitos estudos relacionados com a otimização do tratamento enzimático para o processo de liquefação e aumento de rendimento de polpa de fruta. Porém, ainda não foram encontrados dados na literatura relacionados à atuação de complexos enzimáticos comerciais na polpa de noni.

Diante do exposto, o trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da maceração enzimática da polpa de noni, de forma a proporcionar um incremento e viabilização na produção de seus derivados, sendo feita a caracterização físico-química e química da polpa de noni, caracterização das preparações enzimáticas comerciais utilizadas e estudo da influência dos tipos e concentrações de enzimas adicionadas na polpa, bem como as condições operacionais do processo enzimático.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Noni (*Morinda citrifolia* L.)

Morinda citrifolia Linn é uma planta conhecida popularmente como noni, originária do Sudeste da Ásia e Austrália e, subseqüentemente, foi distribuída em toda a região do Pacífico, principalmente nas ilhas da Polinésia Francesa, onde se situa o Taiti. Foi uma das plantas que os colonizadores polinésios do Havaí levavam em suas canoas porque valorizavam a sua utilização como medicamento e como corante (NELSON, 2001). Assim, é uma planta tipicamente encontrada nas ilhas do Havaí e Taiti (WANG *et al.*, 1999; WANG; SU, 2001).

O noni, nome havaiano, apresenta outras denominações dependendo da cultura de cada país e região como: “Indian Mulberry”, “nuna” ou “ach” na Índia, “ba ji tian” na China, “nono” no Tahiti e Raratonga, “Cheesefruit”, “great morinda” e “canary Wood” na Austrália, “Mengkudu” na Malásia, “nhau” no Sudeste da Ásia, “Painkiller Tree” ou “Polynesian Bush Fruit” no Caribe, “Grand Morinda” no Vietnã e “Bumbo” na África (ELKINS, 1998; MORTON, 1992; NELSON, 2001; ROSS, 2001).

A planta do noni tem sido utilizada pelos Polinésios, tanto como alimento como para fins medicinais, por mais de 2000 anos (EARLE, 2001). Na farmacopéia tradicional alega-se que a fruta previne e cura várias doenças, onde é usada principalmente para estimular o sistema imunológico, portanto, para combater bactérias, infecções virais, parasitárias, fúngicas e também para prevenir a formação e a proliferação de tumores, incluindo malignos (DIXON; MCMILLEN; ETKIN, 1999; EARLE, 2001; McCLATCHEY, 2002). Entre as enfermidades e afecções mais tratadas encontram-se: alergia, artrite, asma, câncer, depressão, diabetes, hipertensão, distúrbios menstruais, musculares, obesidade, úlceras gástricas, dores de cabeça, inibição sexual, insônia, depressão, estresse, problemas respiratórios, AIDS, esclerose múltipla e dependência de drogas (McCLATCHEY, 2002; WANG *et al.*, 2002).

Praticamente todas as partes da planta de noni são utilizadas e a cada uma delas são atribuídas propriedades medicinais diferentes. A casca, à qual é atribuída propriedade adstringente, é utilizada no tratamento da malária; as folhas são usadas como analgésico e para inflamações externas; as flores são empregadas no tratamento de inflamações oculares; o extrato das raízes ajuda a baixar a pressão sanguínea; as sementes são utilizadas como laxante.

O fruto é a parte da planta de mais ampla utilização, sendo várias as aplicações, entre estas: antibactericida, analgésico, anticongestivo, antioxidante, expectorante, antiinflamatório, adstringente, emoliente, emenagogo, laxativo, analgésico, hipotensor, purificador do sangue, imunoestimulante e tônico (ELKINS, 1997). Também é atribuída ao fruto, ação anticancerígena (RODRÍGUEZ; PINEDO, 2004).

Atualmente o noni é encontrado em várias partes do mundo, como nas regiões tropicais da África (Centro e Sul), no Caribe, Austrália, China, Malásia, Indonésia, Índia (LÜBECK; HANNES, 2001), na América do Norte e América do Sul (ROSS, 2001). Por ser uma planta resistente nasce em qualquer lugar. Os frutos maduros são distribuídos por diversos animais incluindo morcegos. As sementes, que têm uma câmara de ar, também são distribuídas no curso das correntes oceânicas e isso tem contribuído significativamente para essa propagação e localização atual (MACPHERSON *et al.*, 2007).

2.1.1 Características da planta

Classificação botânica

- ♣ Reino: *Plantae*
- ♣ Divisão: *Magnoliophyta*
- ♣ Classe: *Magnoliopsida*
- ♣ Ordem: *Gentianales*
- ♣ Família: *Rubiaceae*
- ♣ Gênero: *Morinda*
- ♣ Espécie: *M. citrifolia*
- ♣ Nome científico: *Morinda citrifolia* Linn*

*Carolus Linnaeus, (23/05/1707 – 10/01/1778); sueco botânico, físico e zoólogo que classificou a planta *M.citrifolia*, responsável pelos fundamentos do esquema de nomenclaturas da taxonomia moderna.

O Gênero *Morinda* foi derivado de duas palavras em latim *morus*, amora, e *indicus*, na Índia, devido à semelhança do fruto de noni ao da verdadeira amora (*Morus alba*). O nome da espécie indica a semelhança da folhagem da planta para com algumas espécies de citros (NELSON; ELEVITCH, 2006).

Dentre as características da planta se destacam as suas habilidades às mais diversas situações de clima, solo e sob estresses ambientais. É uma planta que cresce tanto em florestas de solos férteis, como em áreas de baixa fertilidade em terras arenosas e em solos poucos profundos e rochosos (NUNES *et al.*, 2009). Conforme descrito por Nelson e Elevitch

(2006) é uma cultura tolerante aos efeitos salinos e alcalinos dos solos e se desenvolve tanto em regiões de clima seco como de clima úmido.

Morinda citrifolia é um arbusto ou árvore pequena (Figura 1A), mede 3-10m de altura (DIXON; MCMILLEN; ETKIN, 1999; ELKINS, 1998; MORTON, 1992; ROSS, 2001), é perene e de clima tropical e temperado, onde freqüentemente cresce em áreas florestais e em regiões costeiras, com cerca de 400 metros acima do nível do mar (LÜBECK; HANNES, 2001; McCLATHEY, 2002; WANG *et al.*, 2002) . Desenvolve-se bem em solos vulcânicos ricos em minerais, apesar de também se desenvolverem em solos arenosos ou muito úmidos (McCLATHEY, 2002; WANG *et al.*, 2002). Considerada muito resistente e de boa longevidade, quando se desenvolve exposta ao sol e sem a presença de ventos frios dificilmente é infectada por doenças ou atacada por insetos (GERMOSÉN-ROBINEAU, 1995). Quando a planta é madura resiste à seca seis meses ou mais, e quando cresce em condições áridas pode passar a vida toda em completa seca (NELSON; ELEVITCH, 2006).

O tronco, apresentando lenho amarelo e ramos tetragonais até subcilíndricos, pode atingir cerca de 15 cm de diâmetro (VEIGA *et al.*, 2005). Os galhos jovens são angulares e observam-se ranhuras (estrias). As folhas são elípticas (Figura 1B), opostas com margens onduladas, possuindo coloração verde brilhante na face superior e opaca na inferior (McCLATHEY, 2002; WANG *et al.*, 2002) e apresentam uma grande variedade no tamanho (5-17 cm de comprimento, 10-40 cm largura) (CARDON, 2003; DIXON; MCMILLEN; ETKIN, 1999; ELKINS, 1998; MORTON, 1992; ROSS, 2001).



Figura 1- Planta *Morinda citrifolia* (A) e suas folhas (B)
(Fonte: Antonia Alais da Silva Correia)

As inflorescências axilares apresentam-se em capítulos solitários e às vezes em número de 2 a 3 por axila, sendo o pedúnculo glabro, de 1 a 3 cm de comprimento. As flores tubulares, sésseis e unidas basalmente, apresentam corola branca ou esverdeada; possuem de 4 a 6 estames, com anteras e estigmas medindo até 5 mm de comprimento (VEIGA *et al.*, 2005). Essas pequenas flores brancas tubulares são agrupadas e inseridas no pedúnculo. Os pecíolos deixam marcas anelares nas hastes e coroa branca esverdeada, conforme apresentado na Figura 2A (DIXON; MCMILLEN; ETKIN, 1999; ELKINS, 1998; MORTON, 1992; ROSS, 2001).

Os frutos (Figura 2B), aparecem reunidos em um sincarpo de 4 a 12 cm de diâmetro (VEIGA *et al.*, 2005) são ovais (3-10 cm de comprimento e 3-6 cm de largura) e possuem uma superfície grumosa coberta de secções com formatos poligonais castanhos e varia de cor verde para amarelo ou branco opalescente quando maduros, podendo chegar a pesar 800 gramas (GERMOSÉN-ROBINEAU, 1995; McCLATHEY, 2002; WANG *et al.*, 2002). A polpa, creme, carnosa e succulenta, apresenta sabor e aroma não muito agradáveis, lembrando o sabor de um queijo maturado. As sementes, mais de 100 por fruto grande, são triangulares a alongadas, marrons e medem entre 3 e 10 mm de comprimento (VEIGA *et al.*, 2005).

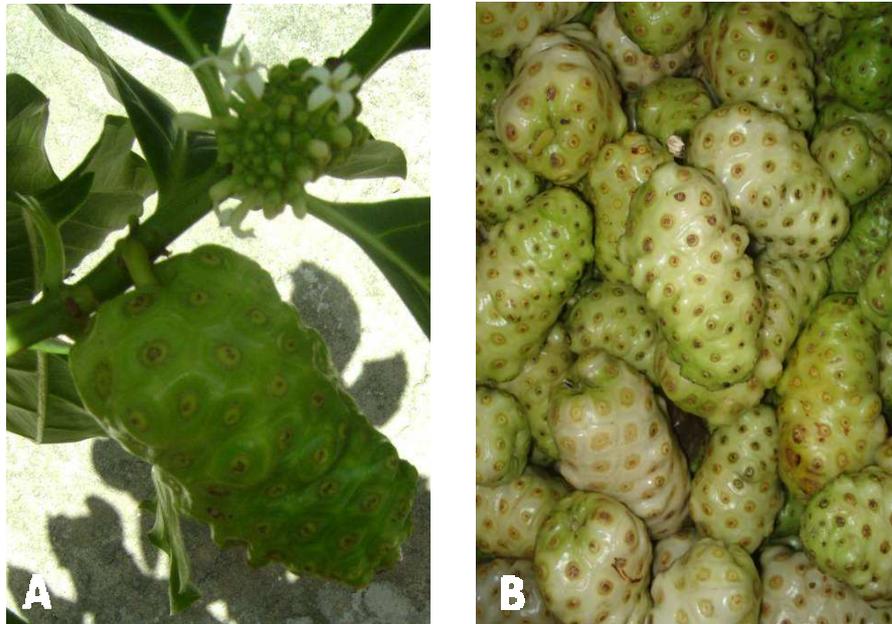


Figura 2- Inflorescência, fruto do noni (A) e frutos de noni fora da planta mãe (B).
(Fonte: Antonia Aláís da Silva Correia)

2.1.2 Colheita

Sob condições favoráveis, a planta produz frutos cerca de nove meses a um ano após o plantio. Nesta fase, os frutos podem ser colhidos, mas eles geralmente são pequenos e a produção por árvore é baixa, por isso, muitos produtores preferem não colher no primeiro ano. Alguns agricultores optam por não colher nem no primeiro e nem no segundo ano para podar a planta. Isso resulta em uma planta com ramos mais verticais e laterais, e finalmente produz maior rendimento de frutos. Além de ser uma planta bastante precoce, após ter iniciado a produção dá frutos o ano inteiro (NELSON, 2001).

No Havái os frutos são colhidos ao longo do ano embora existam padrões sazonais de floração e safra de frutos (fatores meteorológicos, fumigação e irrigação). Dessa forma, no inverno, a produção de frutas pode diminuir um pouco (NELSON, 2001).

É possível encontrar frutos em diferentes estádios de maturidade na mesma planta ao mesmo tempo (LÜBECK; HANNES, 2001). A maturação de um fruto pode ser definida como a seqüência de mudanças na cor, aroma e textura, conduzindo a um estado que o torne comestível, e, com isto, apropriados para o consumo *in natura* e/ou industrialização (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Dependendo do programa de tecnologia pós-colheita adotado, os frutos podem ser colhidos em diferentes estádios de maturação e continuam a amadurecer, a menos que medidas sejam tomadas para retardar o amadurecimento. Assim, o noni é um fruto climatérico, pode ser colhido verde sem afetar a continuidade da maturação fisiológica.

A evolução da cor e firmeza dos frutos quando amadurecem naturalmente na planta é relatada na Tabela 1. Quando verde, tem coloração da casca verde e com o amadurecimento se torna amarelo pálido ou esbranquiçado, posteriormente cinza translúcido e finalmente torna-se castanho com a senescência (Figura 3). O fruto possui uma película fina (casca), facilmente retirada, quando o fruto está maduro. Considerando a polpa, ocorre mudança de coloração, passando da cor branca para a amarela, à medida que o fruto amadurece.

Tabela1- Evolução da cor e da firmeza do fruto durante o amadurecimento*

Estádio de maturação	Cor	Firmeza
1	Verde escuro	Muito duro
2	Verde amarelado	Muito duro
3	Amarelo esbranquiçado	Muito duro
4	Amarelo esbranquiçado	Razoavelmente duro
5	Translúcido - acinzentado	Macio

*Fonte: CHAN-BLANCO *et al.*, 2006.

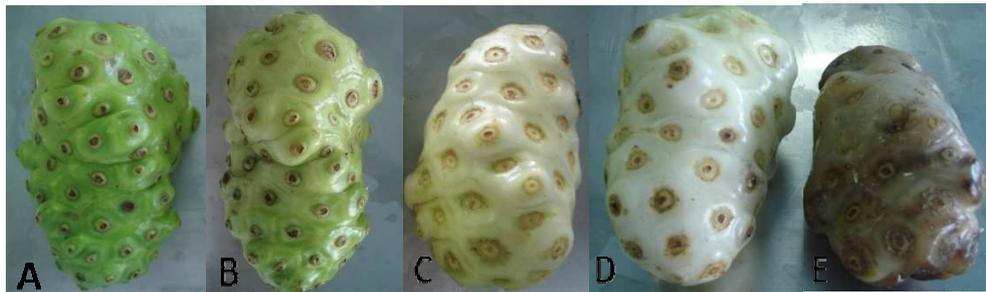


Figura 3- Noni em diferentes estádios de maturação: Noni verde (A), noni verde amarelado (B), noni amarelo esbranquiçado (C), noni translúcido, maduro (D) e noni marrom, em fase de senescência (E).
(Fonte: Antonia Alaís da Silva Correia)

Segundo McKoy, Thomas e Simon (2002) a mudança de cor verde para amarelo esbranquiçado ocorre quando o fruto estiver totalmente maturado, estando pronto para o consumo quando a casca estiver cerosa e semi-translúcida. A mudança de estágio 4 para o estágio 5 ocorre muito rapidamente (poucas horas), a polpa praticamente liquefaz, o fruto se torna translúcido e ocorre o desenvolvimento do característico cheiro butírico (CHANBLANCO *et al.*, 2006).

Os frutos podem ser colhidos antes que comece o amadurecimento e enquanto ainda estiver duro, favorecendo o transporte. Estes frutos são selecionados individualmente na árvore e colhidos manualmente. A exposição dos mesmos a temperaturas elevadas ou luz imediatamente após a colheita, não afeta a sua total qualidade. Antes do processamento, os frutos amadurecem a temperatura ambiente por um dia ou mais, dependendo da finalidade da aplicação (chá, suco, polpa, produtos dietéticos, etc). Para produção de suco os processadores compram o noni colhidos no estágio "duro branco" já que os frutos tornam-se macio rapidamente, uma vez que este estágio é atingido (NELSON, 2001; NELSON; ELEVITCH, 2006).

A colheita feita antes do amadurecimento do fruto evita problemas com a infestação de mosca da fruta. Frutas que amadurecem na planta também se tornam mais susceptível ao ataque por aves, morcegos e outros animais (MACPHERSON *et al.*, 2007).

2.1.3 Composição química da polpa

A fruta contém 90% de água e os principais componentes da matéria seca, parecem ser sólidos solúveis, fibras alimentares e proteínas (CHAN-BLANCO *et al.*, 2006). Em quantidade substancial estão os hidratos de carbono, incluindo proporções variáveis de sacarose, frutose e glicose (JENSEN *et al.*, 2005). O teor de proteína do fruto é 11,3% da matéria seca a partir do suco e os aminoácidos principais são o ácido aspártico, ácido glutâmico e isoleucina (CHUNHIENG, 2003). Elevada porcentagem de minerais, 8,4% da matéria seca, também é verificada, e os principais são o potássio, enxofre, cálcio e fósforo. As principais vitaminas encontradas no fruto são o ácido ascórbico, e provitamina A (CHAN-BLANCO *et al.*, 2006).

As características químicas e físico-químicas da polpa de noni (*Morinda citrifolia*) são apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2- Características químicas e físico-químicas da polpa de noni.

Características	Chunhieng (2003)	Shovic e Whistler (2001)	Barros <i>et al.</i> (2008)	Chan-Blanco <i>et al.</i> (2007)	Silva <i>et al.</i> (2009)*
pH	3.72	-	3,85	4	4,66-5
Umidade	-	-	-	91,8 g/100g	-
Matéria seca	9.8 ±0.4%	-	-	-	-
AT ¹	-	-	0,82%	-	0,21-0,39%
Açúcares totais	-	-	5,19%	-	-
SS ²	8	-	8,4	7,3	4,83-10,33
Proteína	2.5%	0.4 g/100 g	-	-	-
Lipídeo	0.15%	0.30 g/100 g	-	0.016 g/100g	-
Glicose	11.9±0.2 g/l	-	-	-	-
Frutose	8.2±0.2 g/l	-	-	-	-
Potássio	3900 mg/l	188 mg/100 g	-	-	-
Sódio	214 mg/l	21 mg/100 g	-	-	-
Magnésio	14 mg/l	14.5 mg/100 g	-	-	-
Cálcio	28 mg/l	41.7 mg/100 g	-	-	-
Vitamin C ³	-	155 mg/100 g	105,3mg/100g	316 mg/100 g	101-385mg/100g
Fenólicos	-	-	160,84 mg/100g	-	-

¹AT - acidez titulável (% de ácido cítrico), ²SS- Sólidos solúveis (°Brix), ³Vitamina C- ácido ascórbico (mg.100g⁻¹ de polpa), *Valores mínimos e máximos da composição do noni em diferentes estádios de maturação.

Os teores de acidez, dos frutos de uma maneira geral, não excedem 1,5 a 2,0 g.100g⁻¹, sendo compatíveis com os valores encontrados na Tabela 2, existindo, no entanto, raras exceções como em limão e o maracujá que podem conter teores acima de 3 g.100g⁻¹ e a tamarindo que pode conter até 18 g.100g⁻¹ (IAL, 2005).

O ácido ascórbico (vitamina C) não é sintetizado pelo organismo humano, o que torna indispensável sua ingestão mediante dieta, sendo as frutas consumidas preferencialmente in natura, as principais fontes dessa vitamina. A disponibilidade de frutos ricos em vitamina C é importante no tocante à prevenção e manifestação de doenças, tornando o mesmo como um dos componentes nutricionais de maior importância, sendo utilizado como índice de qualidade dos alimentos (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

O fruto do noni é rico em vitamina C, sendo uma ótima fonte de ácido ascórbico que é um nutriente amplamente relacionado com a atividade antioxidante em frutas. Dos resultados encontrados na literatura, a vitamina C é um dos atributos que apresenta maior variação 105,3 – 385,16 mg.100g⁻¹ de polpa, valores mínimo e máximo respectivamente. Os valores de vitamina C apresentados foram superiores a IDR para adultos que varia de 75 mg/dia para mulheres e 90 mg/dia para homens (Tabela 2).

Os principais açúcares solúveis presentes em frutos são glicose, frutose e sacarose e o teor de açúcares normalmente constitui de 65 a 85 g.100g⁻¹ do teor de sólidos solúveis totais (CHITARRA; CHITARRA, 2005). De acordo com Chunhieng (2003) o noni apresenta 11,9 g/L de glicose e 8,2 g/L de frutose.

Os polissacarídeos extraídos do suco de noni foram parcialmente analisados pela composição de monossacarídeo por cromatografia de camada fina de celulose. Segundo essa análise inicial, eles são compostos de ácido galacturônico (GalA), arabinose (ARA), galactose (Gal) e ramnose (RHA) (HIRAZUMI; FURUSAWA, 1999).

Bui, Bauc e Pettolino (2006) relataram que a fração do suco de noni é composta de carboidrato (67% v/v). A fração polissacarídica é constituída predominantemente por galactose (53,6 mol%), Arabinose (13,6 mol%), ácido galacturônico (17,9 mol%) e ramnose (9,5 mol%). Análise de ligação glicosídica sugere que a fração de polissacarídeo contém principalmente os polissacarídeos pécticos homogalacturonana (4-GalpA), ramnogalacturonana I (4-GalpA, 2-Rhap, 2,4-Rhap), arabinana A (5-Araf, 3,5-Araf, t-Araf), tipo I arabinogalactana (4-Galp, 3,4-Galp, t-Araf) e b-glicosil-Yariv obrigatório arabinogalactana tipo II (3,6 -- Galp, t-Araf). Os baixos níveis de xiloglucana (4-Glcp, 4,6-Glcp, t-Xylp, t-Fucp), heteroxilana (4-Xylp) e heteromanana (4-Manp) também estão presentes.

Os minerais constituem um grupo de elementos largamente distribuídos na natureza e exercem um papel fundamental em diversas funções do organismo humano. As frutas em geral apresentam em sua composição uma grande variedade de sais minerais essenciais, o que as tornam uma rica contribuição para a dieta humana (FRANCO, 1992). Dos minerais, contidos no noni, o que se apresenta em maior quantidade é o potássio (Tabela 2).

Durante o amadurecimento de frutos ocorre o aumento progressivo do teor de sólidos solúveis totais, em decorrência da transformação dos polissacarídeos insolúveis em açúcares solúveis (MELO; LIMA; NASCIMENTO, 2000). A acidez é um importante parâmetro na apreciação do estado de conservação de um produto alimentício. Geralmente, um processo de decomposição, seja por hidrólise, oxidação ou fermentação, altera quase sempre a concentração dos íons de hidrogênio e, por conseqüência, sua acidez.

Silva *et al.* (2009) estudando frutos de noni em três estádios de maturação relataram elevado teor de sólidos solúveis quando maduro (10,33 °Brix) e baixo quando verde (4,83 °Brix). A acidez apresentou um acréscimo de 85,71% durante o processo de amadurecimento do fruto, 0,21% no fruto verde e 0,39% no fruto maduro. A vitamina C atingiu em média 243,16 mg.100 g⁻¹ de polpa, sendo que o fruto verde apresentou teor 73,67% maior quando comparado ao De vez.

Cerca de 160 compostos fitoquímicos já foram identificados na planta *Morinda citrifolia*, e os principais são compostos fenólicos, ácidos orgânicos e alcalóides. Os compostos fenólicos foram descritos como o maior grupo de micronutrientes funcionais, os mais importantes relatados são as antraquinonas (damnacanthal, morindona, morindina) a rutina, asperulosido e escopoletina (CHAN-BLANCO *et al.*, 2006; WANG; SU, 2001).

Segundo Chan-Blanco *et al.* (2007) o noni é uma fruta rica em polifenóis (51,1 mg GAE/100 g). Os compostos fenólicos como, a rutina (6,06 ± 0,41 µg/g) e a escopoletina (27,9 ± 1,7 µg/g) e o valor de 8,0 ± 0,4 µmol Trolox®/g mostra que o noni tem um importante poder antioxidante.

Existem aproximadamente 51 compostos voláteis verificados no fruto maduro incluindo ácidos orgânicos (ácido hexanóico, octanóico e ácido asperulosídico), álcoois (3-metil-3-buteno-1-ol), ésteres (metil octanoato, metil decanoato), cetonas (2-heptanona) e lactonas (E-6-dodeceno-γ-lactona) (CHAN-BLANCO *et al.*, 2006). As análises de aromas mostram que os ácidos orgânicos, especialmente o ácido hexanóico e octanóico constituem 70% de todos os compostos voláteis identificados, e estes são responsáveis pelo cheiro característico do noni (CHAN-BLANCO *et al.*, 2007).

O conteúdo de etanol de 2663mg/L e os 658 mg/L de ácido láctico sugere que o noni apresenta uma fermentação durante o amadurecimento. O conteúdo de metanol (445 mg/L) confirma que esta fruta é rica em pectina (>1%) com alto grau de esterificação (57%) (CHAN-BLANCO *et al.*, 2007).

Um dos principais componentes encontrados na fruta são os alcalóides xeronina e proxeronina (VEIGA *et al.*, 2005). A Proxeronina é precursora do alcalóide xeronina que ativa as enzimas catalisadoras do metabolismo celular (CHAN-BLANCO *et al.*, 2006).

2.1.4 Atividade biológica

Pesquisas estão direcionadas para comprovar o que o conhecimento popular defende, a utilização do noni para prevenção e cura de algumas enfermidades.

As plantas contêm vários componentes ativos medicinalmente que apresentam diversos efeitos terapêuticos. Experimentos de laboratório *in vitro* e *in vivo* com o suco, extrato ou compostos isolados do noni realizados por pesquisadores e profissionais da área médica demonstram que o noni pode conferir benefícios à saúde por promover efeito antimicrobiano, atividade anticancerígena, antioxidante, antiinflamatória, analgésica e cardiovascular (FURUSAWA *et al.*, 2003; HIRAZUMI; FURUSAWA, 1999; KAMIYA *et al.*, 2004; SALUDES *et al.*, 2002; WANG; SU, 2001; WANG *et al.*, 2002; ZIN; ABDUL-HAMID; OSMAN, 2002).

2.1.4.1 Efeito antimicrobiano

Foi relatado que o noni inibe o crescimento de certas bactérias, como *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus morgaii*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Helicobacter pylori*, *Salmonella* e *Shigella* (ATKINSON, 1956). O mesmo autor afirma que o efeito antimicrobiano observado pode ser devido à presença de compostos fenólicos, tais como acubin, L-asperuloside, alizarina, escopoletina e outras antraquinonas. Outro estudo mostrou que um acetonitrila extraído do fruto seco inibiu o crescimento de

Pseudomonas aeruginosa, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* e *Streptococcus pyrogene* (LOCHER *et al.*, 1995).

A atividade antituberculosa do Noni foi descrita por Saludes *et al.* (2002), que mostraram que a fração hexano do extrato de Noni foi capaz de inibir o crescimento da *Mycobacterium tuberculosis* em 89-95%. Muitos desses estudos têm demonstrado que o efeito antimicrobiano é dependente do estágio de maturação e de tratamento, sendo maior quando a fruta está madura, sem secagem (MACPHERSON *et al.*, 2007).

2.1.4.2 Atividade anticancerígena

O potencial profilático e terapêutico contra Sarcoma 180 foi investigado por Furuzawa *et al.* (2003) utilizando uma substância rica em polissacarídeos chamada Noni-ppt extraída da *M. citrifolia*. Os resultados mostraram que a atividade antitumoral de Noni-ppt produziu a cura em 25% a 45% dos camundongos alogênicos e que esta atividade foi completamente abolida através da administração concomitante de inibidores específicos de macrófagos (2-cloroadenosine), células T (ciclosporina) ou células *natural killer*.

As propriedades imunomodulatórias (capacidade para melhorar o sistema imunológico do hospedeiro) do suco de noni tem sido proposta como ação anti-câncer. O polissacarídeo, composto de ácido glucurônico, galactose, arabinose e ramnose, extraído do suco de noni apresentou uma possível ação contra o carcinoma peritoneal de Lewis. Onde, a administração terapêutica do suco ativou as células peritoneais e assim aumentou o tempo de sobrevivência dos camundongos (HIRAZUMI *et al.*, 1996; HIRAZUMI; FURUSAWA, 1999). Foi proposto que os sucos de noni reprime o crescimento de tumores, estimulando o sistema imunológico.

Wang e Su (2001), investigando o efeito preventivo do suco de noni sobre a carcinogênese sugeriram que o mesmo possui efeito preventivo contra a formação de tumores originados no DNA celular. Assim concluíram que o suco pode contribuir na prevenção de estágios iniciais de câncer.

2.1.4.3 Atividade antioxidante

Zin, Abdul-Hamid e Osman (2002) investigaram a atividade antioxidante dos extratos das raízes, folhas e frutos da *M. citrifolia*. Os resultados mostraram que extratos não polares das três partes da planta demonstraram possuir alta atividade antioxidante quando comparados com antioxidantes clássicos como o α -tocoferol e di-terc-butilmetil-fenol (BHT).

Foram isolados 19 compostos da *M. citrifolia* e avaliados quanto sua atividade antioxidante. Deste total oito compostos demonstraram possuir potente atividade antioxidante: narcissoside, borreriagenin, cytidine, deacetylasperuloside, dehydromethoxygaertneroside, epi-dihydrocornin, methyl α -Dfructofuranoside e methyl β -D-fructofuranoside (SU *et al.*, 2005).

Zin, Abdul-Hamid e Osman (2002) avaliaram o extrato acetato de etila da fruta noni e descobriram que o mesmo apresenta forte inibição da oxidação lipídica comparável ao mesmo peso de α puro-tocoferol e butil-hidroxitolueno.

A atividade antioxidante do suco foi analisada *in vitro*, através da avaliação da capacidade potencial do suco em proteger as células ou lipídeos de alteração oxidativa promovida pelos radicais de ânion superóxido. A atividade antioxidante foi comparada com os da vitamina C, pó de semente de uva e extrato da casca de pinheiro (pycnogenol). A atividade para combater radicais ânions superóxido (SAR) do suco noni mostrou ser 2,8 vezes maior que a vitamina C, 1,4 vezes maior que o pycnogenol e 1,1 vezes maior que o pó de semente de uva (WANG; SU, 2001).

2.1.4.4 Atividade antiinflamatória

Li *et al.* (2003) investigaram *in vitro* a atividade antiinflamatória de 24 espécies de plantas australianas e chinesas, e observaram que a *M. citrifolia* em pó possui atividade inibitória da enzima cicloxigenase COX-1.

Outro estudo mostrou que o suco de noni comercial tem um efeito de inibição seletiva em algumas enzimas cicloxigenase (COX-1 e COX-2) envolvidas em atividade antiinflamatórias na mama, cólon e pulmão (SU *et al.*, 2001). A inibição da atividade destas enzimas pelo suco de noni foi comparada com outros antiinflamatórios tradicionais não

esteroidais, como aspirina, indometacina e um inibidor seletivo da COX-2, o celecoxibe. Os resultados mostraram que a seletividade para a inibição da COX-2 do suco comercial é comparável com a do celecoxibe e sem efeitos colaterais.

McKoy, Thomas e Simon (2002) mostraram que os extratos, aquoso e etanólico, do suco de noni possuem atividade antiedematogênica quando administrados tanto por via oral quanto por via intraperitoneal, utilizando o modelo de edema de pata induzido por carragenina.

2.1.4.5 Atividade analgésica

Pesquisas examinaram as propriedades analgésicas de um suco comercial em ratos. Os resultados mostraram que ratos alimentados com 10% e 20% de suco de noni tiveram maior tolerância à dor (162% e 212%, respectivamente) comparado com o grupo placebo (WANG *et al.*, 2002). Uma equipe de pesquisadores franceses também estudou os efeitos analgésicos e sedativos de noni em ratos. O extrato da raiz do noni (1,600 mg / kg) apresentou atividade analgésica significativa nos animais, semelhante ao efeito de morfina (75% e 81% de proteção através de noni e morfina, respectivamente), e ele também se mostrou ser não-tóxico (YOUNOS *et al.*, 1990).

2.1.4.6 Atividade cardiovascular

Estudos têm demonstrado os efeitos do noni na prevenção da arteriosclerose, uma doença relacionada com a oxidação das lipoproteínas de baixa densidade (LDL). Metanol e extratos de acetato de etila mostraram 88 e 96% de inibição, respectivamente, de cobre, induzindo a oxidação do LDL (usando o ácido tiobarbitúrico método reativa). Esse efeito benéfico pode ser devido à presença de ligninas e dímeros fenilpropanóide (KAMIYA *et al.*, 2004).

2.2 Suco de noni e seu comércio

O suco do noni é comumente usado como um “milagre” de cura em muitos países tropicais, incluindo Taiti, Havaí e as ilhas do Caribe (McKOY; THOMAS; SIMON, 2002). Recentemente, o suco tornou-se um suplemento alimentar bastante consumido nos Estados Unidos, Japão e parte da Europa. O crescimento em popularidade pode ser em parte atribuído ao seu poder “cura-tudo”. Este suco vem sendo utilizado na medicina popular no tratamento de doenças e/ou distúrbios tais como: diabetes, diarreia, dores, hipertensão, artrite, estresse e câncer (SU *et al.*, 2005).

O tradicional processo da polinésia para a obtenção do suco de noni consiste em armazenar os frutos em recipientes fechados, por 4-8 semanas, recuperando o suco através de lixiviação e / ou pressão mecânica, pasteurização e acondicionamento (NELSON, 2005). O suco pode ser puro ou em mistura com outros sucos de frutas (geralmente de uva), para melhorar a palatabilidade, podendo ser engarrafado com ou sem pasteurização. Algumas vezes o suco de noni é utilizado em combinação com outras substâncias vegetais, como alho e pimenta com intuito de aumentar sua eficácia (McKOY; THOMAS; SIMON, 2002; NELSON, 2005).

O suco de noni comercial é tradicionalmente feito pela fermentação das frutas em containeres selados por dois meses a temperatura ambiente. Já o suco fresco é feito por compressão direta de frutas do noni (NELSON, 2005). Alguns sucos de noni são feitos cozinhando os frutos por horas. Muitos habitantes das ilhas do Pacífico usam fermentação para fazer o suco de noni em casa, colocando as frutas em frascos ao ar livre sob o sol por meses. O pó normalmente é feito por desidratação do purê de noni em um desidratador de ar quente por um dia (MONIZ, 1994). Após a produção, o suco e pó são processados sob várias condições (RAM, 2002). No processamento e armazenamento a luz, temperatura, e oxigênio podem promover reações químicas indesejáveis que reduzem os benefícios de saúde dos produtos de noni aos consumidores. A qualidade dos alimentos funcionais é de fundamental importância, mas as formas em que o processamento e o armazenamento afetam as propriedades funcionais dos produtos do noni não são conhecidas (YANG *et al.*, 2007).

Cientistas americanos tomaram conhecimento do uso tradicional do suco de noni na Polinésia Francesa, fundaram uma empresa e introduziram o suco na América do Norte e depois para mais de 50 países do mundo (WESTENDORF *et al.*, 2007). De acordo com Potterat e Hamburger (2007), os produtos derivados da fruta noni (*Morinda citrifolia* L.),

eram comercializados na União Européia desde 1990, mas foi aprovado e registrado como "Novos Alimentos" apenas em Maio de 2003. Contudo, para as marcas legalmente registradas, no momento, são inúmeras marcas no mercado ilegal, o que dificulta o controle de qualidade (WESTENDORF *et al.*, 2007).

A indústria do Noni cresceu enormemente nos últimos 10 anos, com o grande marketing feito mundialmente sobre o sumo, especialmente após a aprovação do suco como alimento atóxico e saudável pela União Européia, (WEST *et al.*, 2006). Os maiores mercados de noni são América do Norte, Europa, Japão, México, Ásia e Austrália com o mercado mundial para esses produtos estimado em US\$ 400 milhões dólares (MACPHERSON *et al.*, 2007).

No início do ano de 2005, o suco do noni já movimentava US\$ 1,3 milhões / mês no Brasil. A garrafa de um litro era vendida em média por R\$ 160,00. A principal empresa responsável pelas vendas no Brasil tinha a meta de chegar a atingir 1 milhão de consumidores / mês. Ela atua em 73 países e tem dez mil distribuidores. De 1996 a 2003 ela cresceu 7.400% e suas vendas somaram US\$ 2 bilhões. Uma garrafa de noni é vendida a cada 1,8 segundos, em todo o mundo (MELAMET, 2008).

O grande *marketing* comercial do noni no Brasil foi reflexo do papel econômico que este representa para os países que o produzem. Existiam mais de 18.000 distribuidores dos produtos derivados da Noni cadastrados no país, sendo que o Brasil era o quinto mercado de TAHITIAN NONI® no mundo (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE EMPRESAS DE VENDAS DIRETAS, 2008).

Porém, o suco estava entrando no Brasil como suplemento alimentar sem qualquer tipo de controle onde aqui era comercializado como medicamentos e de acordo com o Decreto-lei brasileiro Nº 986 de 21 de outubro de 1969 (Art. 3), o qual relata que todo suplemento alimentar somente deverá ser exposto ao consumo ou entregue à venda depois de registrado no órgão competente do Ministério da Saúde. Então, a ANVISA liberou em 29 de maio de 2007 o informe técnico nº 25, referente a área de alimentos, que intitulou-se: Esclarecimentos sobre a comercialização do suco de fruta noni (*Morinda citrifolia*). Neste documento a ANVISA adverte: Com o intuito de proteger e promover a saúde da população, os produtos contendo noni não devem ser comercializados no Brasil como alimento até que os requisitos legais que exigem a comprovação de sua segurança de uso e registro sejam atendidos (ANVISA, 2007). Portanto a comercialização de produtos do noni está proibida no Brasil.

2.3 Processamento de frutos

No processamento de frutos as alterações nas propriedades funcionais (textura, características reológicas, extração do suco) são diretamente relacionadas às mudanças estruturais nos polímeros da parede celular, em particular pectina e, em menor grau, alterações na hemicelulose e material celulósico (BUGGENHOUT *et al.*, 2009; SILVA *et al.*, 2009).

A produção de sucos de frutas envolve a transformação de tecidos sólidos, intactos e organizados em um sistema semifluido de células e fragmentos de paredes celulares suspensas em um líquido celular. O suco está contido no vacúolo de cada célula parenquimatosa do tecido comestível da fruta. Para extrair o suco é preciso desorganizar os tecidos, obtendo-se a polpa composta de paredes celulares e de líquido (SILVA, 1997). O suco resultante das frutas despulpadas é rico em partículas insolúveis e em materiais suspensos constituídos, principalmente, por substâncias pécticas, polissacarídeos em geral (como, por exemplo, celulose, hemicelulose e o amido), proteínas, taninos, metais e microorganismos (KASHYAP *et al.*, 2000b).

Assim, tornaram-se imprescindível os estudos sobre a parede celular vegetal e pesquisas sobre diferentes processos industriais que proporcionassem um melhor rendimento na produção de sucos com bom aspecto e dentro dos padrões de qualidade. Existem técnicas distintas, que de um ponto de vista histórico, começam com o uso do pilão, passam pelas prensas e chegam até as enzimas pectinolíticas e celulolíticas (SILVA, 1997).

2.4 Parede celular vegetal

Paredes das células vegetais são matrizes de polissacarídeos complexos com diversas funções estruturais e fisiológicas. Em plantas superiores, a parede celular primária é predominantemente composta por água, celulose, hemicelulose e pectina, e, em menor extensão estrutural glicoproteínas, ésteres fenólicos, covalentemente e ionicamente minerais e enzimas (SILVA *et al.*, 2009).

A estrutura da parede celular é altamente organizada, formada por uma rede de celulose e hemicelulose embebida em uma matriz de polissacarídeos pécticos conforme a figura 4, o que fornece ao mesmo tempo resistência e flexibilidade (TAIZ; ZEIGER, 2004).

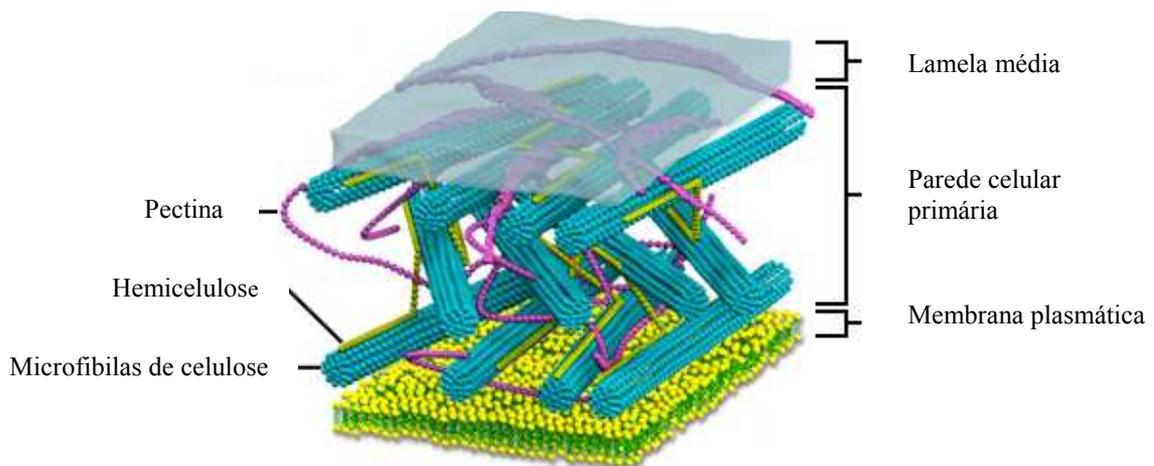


Figura 4 - Estrutura da parede celular vegetal, adaptada.
 Fonte: (<http://micro.magnet.fsu.edu/cells/plants/cellwall.html>)

A parede celular vegetal é uma estrutura dinâmica, cuja forma, composição e propriedades são constantemente alteradas ao longo da vida celular em resposta ao crescimento, diferenciação, ambiente e atividades da célula. Nas células vivas, a parede celular influencia a taxa e a direção do crescimento celular, exercendo uma profunda influência no desenvolvimento e morfologia vegetal. Assim, determina a forma da célula, a textura do tecido e a forma final do órgão vegetal (CARPITA; McCANN, 2000; RAVEN; EVERT; EICHHORN, 2001).

Morfologicamente a parede celular é dividida em três regiões distintas, a lamela média, a parede primária e a parede secundária. A lamela média é a região que une as paredes primárias de células vizinhas. Esta camada intercelular é rica em substâncias pécicas mergulhadas em meio aquoso (CARPITA; McCANN, 2000; RAVEN; EVERT; EICHHORN, 2001).

A parede celular primária é o termo usado para denominar a parede celular das plantas em crescimento, das células de tecidos vegetais suculentos e das células parenquimáticas de folhas e frutos (MARCON, 2004). Quando o crescimento celular é finalizado inicia-se o processo de diferenciação celular, com o início da formação da parede secundária, que se desenvolve a partir da primária e se localiza internamente a esta, sendo caracterizada pela presença de lignina (RAVEN; EVERT; EICHHORN, 2001).

2.4.1 Celulose

A celulose é o mais abundante polissacarídeo da parede celular vegetal, presente tanto nas paredes primárias quanto nas secundárias. Ela constitui cerca de 15 a 30% da matéria seca de parede celular primária e ocupa cerca de 15% de seu volume. A celulose está localizada numa matriz entremeada por moléculas não-celulósicas, incluindo hemiceluloses, pectinas e glicoproteínas (CARPITA; McCANN, 2000; RAVEN; EVERT; EICHHORN, 2001).

A celulose é produzida na forma de microfibrilas de celulose, semi-cristalinas em cadeias lineares de β -(1 \rightarrow 4) D-glicose ligadas por pontes de hidrogênio (DELMER, 1999). Cada microfibrila de celulose contém aproximadamente 36 cadeias lineares de glicose, cuja organização determina as propriedades mecânicas da célula e promovem o suporte e resistência à parede celular (EMONS *et al.*, 2002). Dentro da microfibrila, cada cadeia de β -(1 \rightarrow 4) D-glicose de aproximadamente 2-3 μ m de comprimento começa e termina em diferentes pontos, permitindo que essa alcance um comprimento de centenas de micrômetros. As microfibrilas têm de 5 a 15 nm de largura e estão 20-40 nm espaçadas entre si (CARPITA; McCANN, 2000). Os modelos atuais da organização microfibrilar sugerem que ela tem uma subestrutura constituída de domínios altamente cristalinos unidos por ligações amorfas (TAIZ; ZEIGER, 2004).

Em geral se associam à celulose e à lignina na parede celular e são constituídas de longas cadeias, muitas vezes com numerosas ramificações curtas, constituídas de uma ou várias unidades monossacarídicas, que normalmente são diferentes daquelas que constituem a cadeia principal (WHISTLER, 1993).

2.4.2 Hemicelulose

As hemiceluloses são polissacarídeos da matriz da parede celular, distintos de celulose e pectinas, solúveis em álcali e encontrados em paredes celulares primárias e secundárias. Constituem cerca de 20% do peso seco da parede celular e representam um grupo heterogêneo de polissacarídeos em relação aos tipos de monossacarídeos e à natureza das ligações glicosídicas (DEY; HARBORNE, 1997; WONG; SADDLER, 1993). Os principais

monossacarídeos que compõem as hemiceluloses são D-xilose, D-galactose, D-glucose, L-arabinose, D-manose e ácido D-glucurônico (ROWEL *et al.*, 2005). As principais hemiceluloses são as xiloglucanas e glucuronoarabinoxilanas que são constituintes de paredes celulares primárias, além de mananas, glucomananas e galactoglucomananas (ALBERSHEIM *et al.*, 1996).

A hemicelulose mais abundante na parede primária de dicotiledôneas é o xiloglucana. Este polímero possui uma estrutura de resíduos de β -(1 \rightarrow 4) D-glicose, com cadeias laterais de xilose. Esses resíduos de xilose podem ser substituídos por arabinose e galactose, sendo que, dependendo da espécie, a galactose pode ser ainda substituída por fucose. Os xiloglucanos são longos o suficiente (cerca de 50 a 500 nm) para se extenderem entre a distância de 2 microfibrilas unindo-as e formando assim, e formando assim uma rede coesa com a celulose e promovendo um rearranjo espacial adequado. A formação dessa rede envolve interações físico-químicas entre os polissacarídeos e determina a maioria das propriedades físicas da parede celular (CARPITA; McCANN, 2000; TAIZ; ZEIGER, 2004).

2.4.3 Substâncias pécticas

Substâncias pécticas são macromoléculas glicosídicas de alto peso molecular (ALMEIDA; BRANYIK; MORADAS-FERREIRA, 2005; JAYANI; SAXENA; GUPTA, 2005). Constituem um complexo coloidal de polissacarídeos ácidos, composto de resíduos de ácido galacturônico unidos por ligações α -1,4, parcialmente esterificados por grupos metil éster e parcial ou completamente neutralizadas por uma ou mais bases (íons sódio, potássio ou amônio). Baseado no tipo de modificações das ligações da cadeia principal, substâncias pécticas são classificadas em protopectinas, ácido péctico, ácido pectínico e pectina. (KASHYAP *et al.*, 2000a).

As protopectinas, compostas por unidades de ácidos galacturônicos ligadas ao cálcio por ligações iônicas de caráter acentuadamente forte, são insolúveis em água e estão presentes nos tecidos vegetais intactos, em condições de hidrólise restrita, produzem ácidos pectínicos ou pectina (JAYANI; SAXENA; GUPTA, 2005).

Ácido péctico é uma designação aplicada a substâncias pécticas compostas de ácido poligalacturônico coloidal, onde os grupos carboxilas estão essencialmente livres de grupos metil éster (KASHYAP *et al.*, 2000a) e seus sais são pectatos neutros ou ácidos. Ácido

pectínico é um grupo de compostos contendo ácido poligalacturônico coloidal com poucos grupos metil éster (JAYANI; SAXENA; GUPTA, 2005).

As pectinas somam cerca de um terço da matéria seca da parede celular de dicotiledôneas e muitas monocotiledôneas, onde exercem diferentes funções. A maior parte destes polissacarídeos é encontrada na lamela média das paredes celulares vegetais, onde são importantes para a adesão célula-célula. Já as pectinas presentes na parede celular primária contribuem para a retenção de água e formação de géis, que influenciam as propriedades mecânicas da parede celular (CARPITA; McCANN, 2000).

As pectinas são constituídas principalmente de ácido D-galacturônico e açúcares neutros, tais como L-ramnose, L-arabinose e D-galactose. São organizadas sob forma de cadeia principalmente de resíduos de ácido D-galacturônico unidos por ligação glicosídica α -(1 \rightarrow 4) formando uma cadeia linear. Os resíduos de ácido galacturônico podem ser parcialmente esterificados na posição C-6 com metanol, assim como os grupos hidroxilas nas posições C-2 e C-3 podem estar parcialmente esterificados com ácido acético (YAPO *et al.*, 2006).

As pectinas com mais da metade dos grupos carboxilas esterificados com o metanol são chamadas de pectinas HM (high-methoxyl pectins), freqüentemente denominadas apenas "pectinas" e têm poder de geleificação na presença de açúcares e ácidos, enquanto que as mesmas, com menos da metade dos grupos carboxilas esterificados com o metanol são chamadas de pectinas LM (low-methoxyl pectins) e apresentam geleificação na ausência de açúcares e na presença de alguns íons metálicos, principalmente o cálcio (LANG; DÖRNENBURG, 2000; ORDOÑEZ, 2005; SILVA *et al.*, 2005).

A estrutura deste polissacarídeo contém 65% de ácido galacturônico (GalA) e é bem diversificada, pois consiste três tipos de frações conhecidas como a linear homogalacturonana (HG) e as ramificadas, ramnogalacturonanas (RG). Homogalacturonana (HG) consiste de ligações 1,4 α -D-GalA com 70 a 80% dos grupos carboxilas esterificados com o metanol, enquanto ramnogalacturonana I (RGI) consiste no dissacarídeo repetido [\rightarrow 4)- α -D-GalA-(1 \rightarrow 2)- α -L-Rha-(1 \rightarrow)] para que uma variedade de diferentes cadeias de gliconas (principalmente arabinana e galactana) fiquem presas aos resíduos de ramnose (Rha) em C-4. A ramnogalacturonana II (RGII) tem uma cadeia principal de HG com cadeias laterais complexas unidas aos resíduos de GalA em C-2 e C-3, possui alguns açúcares raros como fucose, xilose, apiose e ácido acérico, além dos açúcares comuns como arabinose, glucose, ácido galacturônico e glucurônico (BUGGENHOUT *et al.*, 2009; MARCON, 2004; WILLATS; KNOX; MIKKELSEN, 2006).

A estrutura convencional da pectina era formada pelas homogalacturonanas, com ligações simples chamadas de “regiões lisas” (*smooth region*) e as ramnogalacturonanas com ramificações contendo vários açúcares, chamadas de “regiões em cabeleira” (*hairy region*), como mostrado na Figura 5A. Entretanto, uma estrutura alternativa foi proposta por alguns autores, na qual HG pode ser considerada como uma cadeia lateral da RG-I (Figura 5B), o que causou grande impacto nos estudos de estrutura fina das pectinas (VINCKEN *et al.*, 2003; WILLATS; KNOX; MIKKELSEN, 2006).

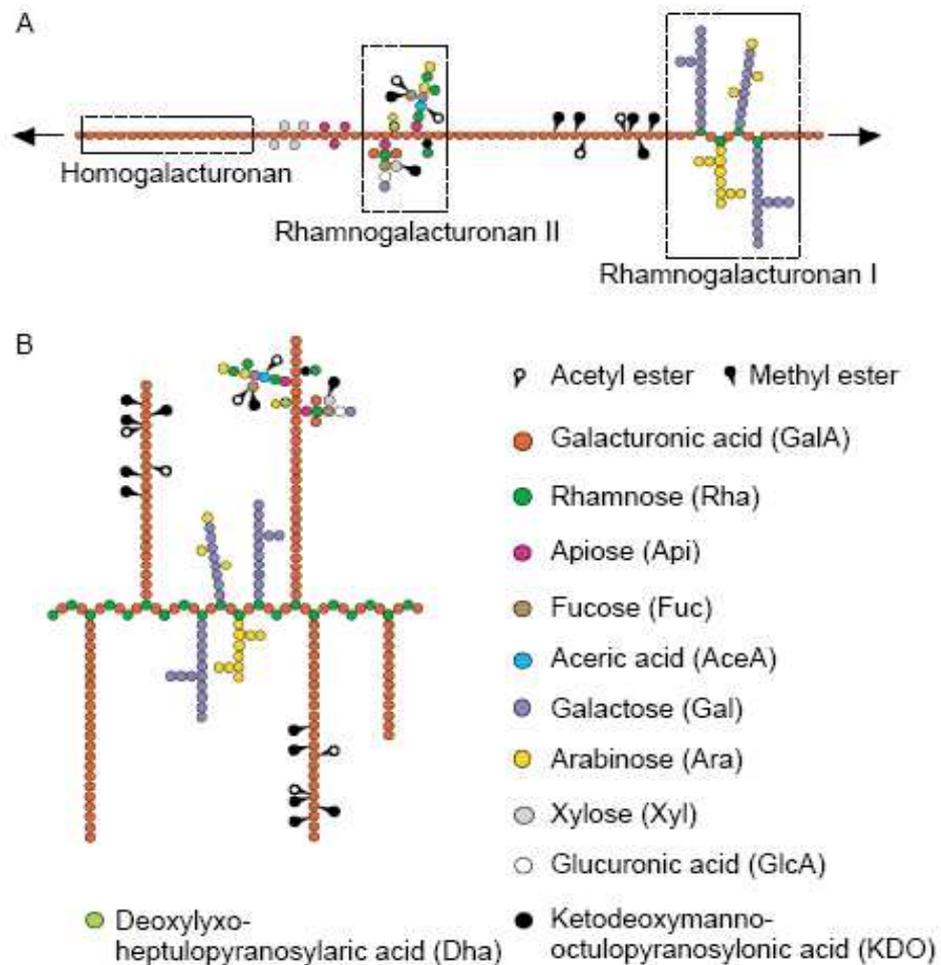


Figura 5 - Representação esquemática da estrutura convencional (A) e da alternativa recentemente proposta (B) das pectinas.

Fonte: Willats, Knox e Mikkelsen (2006).

2.5 Enzimas degradantes da parede celular

2.5.1 Celulases

De acordo com Da Silva, Franco e Gomes (1997), acredita-se que degradação completa da celulose é necessária a ação sinérgica de quatro enzimas: endoglucanase, celobiohidrolase, exoglucosidase e β -glucosidase:

- ❖ Endoglucanase (EG): Endo-1,4- β -glucanase (EC 3.2.1.4) hidrolisam ligações glicosídicas $\beta(1\rightarrow4)$ interna da celulose amorfa, liberando glicose, celobiose e celodextrinas de vários tamanhos. Da sua ação resultam também terminais livres para a ação da celobiohidrolase. A atividade de endoglucanases resulta em uma rápida diminuição da viscosidade acompanhada da taxa de aumento dos grupos redutores.
- ❖ Celobiohidrolase (CBH): exo-1,4- β -glicana celobiohidrolase (EC 3.2.1.91), degrada celulose amorfa por remoção consecutiva de celobiose dos terminais não redutores. As celobiohidrolases e endoglucanases atuam sinérgicamente para degradação completa da celulose cristalina. Em relação as endoglucanases, as celobiohidrolases apresentam uma maior capacidade de redução da viscosidade.
- ❖ Exoglicohidrolase (EXG): Exo-1,4- β -glicana glicohidrolase (EC 3.2.1.74) hidrolisam consecutivamente a remoção de unidades de glicose de terminais não redutores de celodextrinas. A taxa de hidrólise diminui proporcionalmente à diminuição do tamanho da cadeia.
- ❖ β -glicosidase: β -D-glicosideoglicohidrolase (EC 3.2.1.21) clivam celobiose em glicose e removem glicose de terminais não redutores de pequenas celodextrinas. A taxa de hidrólise das celobioses aumenta proporcionalmente à diminuição do tamanho da cadeia. As β -glicosidases e as exoglicohidrolase têm em comum os substratos de cadeia de glicose de 2 até 6 unidades, podendo ser distinguidas baseadas nas suas atividades relativas sobre os dois substratos celobiose e celohexose. As β -glicosidases hidrolisam mais rapidamente a celobiose do que as celobiohexoses, enquanto o oposto ocorre com as exoglicohidrolases (ALMEIDA, 2009; DA SILVA; FRANCO; GOMES, 1997).

2.5.2 Hemicelulases

Devido a grande complexidade e heterogeneidade da rede hemicelulolítica a sua hidrólise requer a atuação de várias enzimas que atuam cooperativamente.

- ❖ Xilanase: Endo1,4- β -D-xilanase (EC 3.2.1.8) é uma endo-enzima que degrada aleatoriamente a xilana, principal polímero das hemiceluloses constituído de unidades de D-xilose, liberando xilo-oligossacarídeos. Posteriormente, ocorre a remoção seqüencial de resíduos de D-xilose através da hidrólise dos xilo-oligossacarídeos a partir da extremidade não redutora pela ação da β -xilosidase (EC 3.2.1.37) (COLLINS; GERDAY; FELLER, 2005).
- ❖ Arabinofuranosidase: a exoenzima α -L-Arabinofuranosidases (EC 3.2.1.55) catalisa a hidrólise da ligação glicosídica do terminal não redutor de polissacarídeos contendo resíduos L-arabinosil de cadeias laterais ou de arabinoxilanas, arabinanas, goma arábica e arabinogalactana. Essas enzimas podem hidrolisar as ligações arabinosil α -(1 \rightarrow 3) e (1 \rightarrow 5) destes substratos (SAHA, 2000).
- ❖ Galactosidase: α -Galactosidases (EC 3.2.1.22) catalisa a hidrólise de galactomananas e outros poli e oligossacarídeos contendo galactose removendo resíduos ligados α -(1 \rightarrow 6) e α -(1 \rightarrow 3) (MOREIRA; FILHO, 2008).
- ❖ Mananase: (EC 3.2.1.78) catalisa a remoção de manoses a partir do terminal não redutor das mananas e outros polissacarídeos formados de resíduos de manoses (MOREIRA; FILHO, 2008).

2.5.3 Pectinases

As pectinases são um importante grupo de enzimas capazes de hidrolisar a pectina presente na lamela média e parede primária das células vegetais (GOMES *et al.*, 2007). As enzimas pécticas podem ser divididas em protopectinases, pectinesterases e enzimas despolimerizantes (JAYANI; SAXENA; GUPTA, 2000; KASHYAP *et al.*, 2000a).

- ❖ Protopectinases: solubilizam protopectina formando pectina solúvel altamente polimerizada. São principalmente de dois tipos: protopectinase tipo A (PPase-A), que reage com o sítio interno, isto é, a região do ácido poligalacturônico da

protopectina e, protopectinase tipo B (PPase-B) que reage com o sítio externo, ou seja, com as cadeias de polissacarídeos que podem estar conectadas às cadeias de ácido poligalacturônico, constituintes das paredes celulares.

- ❖ Desmetoxilantes: pectina esterase, polimetilgalacturonato esterase ou PMGE (EC 3.1.1.11) catalisa a desesterificação dos grupos metil éster da pectina, liberando metanol e H⁺, e convertendo pectina em polímero não esterificado (pectato). Esta enzima atua preferencialmente no grupo metil éster da unidade de galacturonato próxima a uma unidade de galacturonato não esterificada. Apresenta valores de pH ótimo variando de 4 a 8 e temperatura ótima de 40 a 50 °C. Apresenta valores de pH ótimo variando de 4 a 8 e temperatura ótima de 40 a 50 °C.
- ❖ Despolimerizantes: são subdivididas em hidrolase e liases.
 - As hidrolases são:
 - a. **Polimetilgalacturonases (PMG)**: catalisam a clivagem hidrolítica da ligação glicosídica α -1,4 da pectina. Estas são subdivididas em *endo-PMG* (EC 3.2.1.15), que causa clivagem randomica da ligação glicosídica α -1,4 da pectina, preferencialmente, na pectina altamente esterificada e *exo-PMG* (EC 3.2.1.15), que causa clivagem sequencial da ligação glicosídica α -1,4 da pectina na extremidade não redutora da cadeia da pectina.
 - b. **Poligalacturonases (PG)**: (EC 3.2.1.15) hidrolisam ligações glicosídicas α (1→4) entre dois resíduos de ácido galacturônico. É a maior enzima com função hidrolítica, podendo ser classificadas de acordo com sua ação *endo* ou *exo* do ácido pectico. As *endo-PG* (EC 3.2.1.15) catalisa a hidrólise randomica da ligação glicosídica α -1,4 do ácido pectico. As *Exo-PG* são subdivididas em *Exo-PG-1* (EC 3.2.1.67) que hidrolisa as ligações sucessivas do ácido poligalacturônico a partir da extremidade não redutora, liberando ácidos galacturônicos livres e *Exo-PG-2* (EC 3.2.1.82), que hidrolisa as ligações alternadas do ácido poligalacturônico a partir da extremidade não redutora, liberando ácidos digalacturônicos livres. Possuem pH ótimo de atividade na região levemente ácida e temperatura ótima entre 30 e 50°C
 - As Liases clivam a ligação glicosídica α -1,4 por trans-eliminação, resultando em galacturonídeo com um ligação insaturada no C4 e C5 na extremidade não redutora do ácido galacturônico formado. Nestas incluem:
 - a. **Pectina-Liase (PMGL)**: pectina liase, polimetilgalacturonato liase (EC 4.2.2.10) catalisa a β -eliminação entre dois resíduos de ácido galacturônico

mais ou menos esterificados, sem absorção de água. São classificadas em *endo-PMGL*, que catalisa a quebra randomica da ligação glicosídica α -1,4 da pectina e *exo-PMGL*, que catalisa a quebra seqüencial da pectina por transeliminação na extremidade da cadeia. O pH ótimo é em torno de 5,5 e temperatura ótima entre 40 e 50 °C.

b. **Poligalacturonato Liase (PGL):** pectato liase catalisa a separação da ligação glicosídica α -1,4 do ácido péctico por trans-eliminação, requer Ca^{2+} para atividade. São divididas em *endo-PGL* (EC 4.2.2.2), que catalisa a clivagem aleatória da ligação glicosídica α -1,4 do ácido péctico e *exo-PGL* (EC 4.2.2.9), que catalisa a clivagem seqüencial da ligação glicosídica α -1,4 do ácido péctico na extremidade da cadeia.

2.6 Utilização das enzimas de maceração

Em produtos de frutas, as enzimas têm sido utilizadas para os seguintes propósitos: quebram as cadeias poliméricas de carboidratos, tais como pectinas, celulose, hemiceluloses e amidos, aumentando assim o rendimento do suco; melhoram o rendimento de substâncias contidas no fruto (ácidos e substâncias que conferem aroma e cor); clarificam os sucos; liquefazem completamente o fruto, aumentando o rendimento em polpa (GRASSIN; FAUGUENBERGUE, 1996; OLSEN, 1995; YUSOF; IBRAHIM, 1994).

O tratamento enzimático destrói parcialmente as paredes celulares, especialmente a estrutura das pectinas por ação de poligalacturonase, pectina metil esterase e pectina liase, provocando a degradação de componentes de elevado peso molecular. Este fenômeno é responsável pela diminuição da viscosidade da polpa, pois reduz o tamanho das macromoléculas presentes pela hidrólise da pectina e proporciona uma maior separação entre as fases sólida e líquida (FARIÑA *et al.*, 2007).

As transformações verificadas com as pectinas conduzem ao aumento da fração solúvel nos sumos e daí o rendimento em sumo ser o mais elevado para o caso do uso da enzima pectinase. (FARIÑA *et al.*, 2007). Uma forma de aumentar ainda mais o rendimento global do processo é a utilização de preparações enzimáticas que atuam simultaneamente nos diversos componentes da matéria-prima (pectina, fibras e amido) (ZADERNOWSKI *et al.*, 2003).

O efeito sinérgico da combinação de pectinases e celulases é um processo crucial no tratamento enzimático da polpa para uma quase completa liquefação das frutas e dos vegetais. A hidrólise enzimática das paredes celulares aumenta o rendimento de extração, diminui o conteúdo de açúcares, de matéria seca solúvel, de ácidos galacturônicos e a acidez titulável. A polpa resultante tem baixa viscosidade e a quantidade de resíduos da polpa é reduzida (UENOJO; PASTORE, 2007).

As preparações enzimáticas são formuladas de enzimas pectinolíticas, de celulases, hemicelulases, proteases e amilases, constituindo um “coquetel” enzimático. Esta combinação chamada coletivamente de enzimas de maceração, é usada na extração e clarificação de sucos de frutas e vegetais, pois agem sinérgicamente degradando a parede celular das frutas, que são ricas em celulose, hemicelulose e, principalmente pectinas (SOUZA *et al.*, 2003). A concentração e tipo de enzimas aplicadas industrialmente dependem da matéria-prima e do processo no qual a mesma será submetida. A adição de α -amilase e amiloglicosidase, ativas a pH ácido, são usadas no processamento de frutas contendo amido, especialmente maçã, para prevenir turvação (UENOJO; PASTORE, 2007). A hidrólise enzimática de substâncias pécticas depende de diversos fatores físico-químicos, tais como tempo de incubação, concentração de enzima e temperatura de incubação.

As enzimas de maceração são utilizadas após o corte da matéria-prima para macerar a polpa até a liquefação parcial ou total da fruta, diminuindo o tempo de processamento e melhorando a extração dos componentes da fruta. Após a extração, pectinases são adicionadas para clarificação e diminuição de viscosidade para facilitar a filtração e concentração (UENOJO; PASTORE, 2007).

O uso de enzimas tem-se revelado muito promissor em termos de rendimento em sumo, proporcionando uma melhor utilização da matéria-prima, aumentando a eficiência nas operações unitárias do processo produtivo, no consumo energético e, em termos ambientais, reduzindo os desperdícios produzidos (SUN *et al.*, 2006; VORA; KYLE; SMALL, 1999; ZADERNOWSKI *et al.*, 2003). Há que ter em conta que a utilização de enzimas implica a garantia de condições de pH e temperatura ótimas para a sua atuação. Caso isto não se verifique, os resultados podem ser escassos ou mesmo piores. Alguns autores afirmam que sem o uso de enzimas, não é possível tornar a produção de sumos de alguns frutos e vegetais viáveis (HELBIG; LAPERCHE, 2001).

Segundo o Ministério da Saúde (BRASIL, 2006), o emprego de enzimas e preparações enzimáticas na fabricação de um alimento está condicionado à sua necessidade tecnológica.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material

3.1.1 Matéria-prima

Os frutos de noni provenientes de um plantio localizado na cidade de Horizonte (Ceará-Brasil) foram colhidos no estágio de maturação verde e transportados para a unidade de processamento da Embrapa Agroindústria Tropical em Fortaleza-CE, onde foram armazenados em caixas plásticas a $21 \pm 2^\circ\text{C}$ e $85 \pm 5\%$ UR (Figura 6).



Figura 6- Frutos de noni armazenados em caixa plástica.
(Fonte: Antonia Alaís da Silva Correia)

O processamento, em escala piloto, foi realizado após uma pré-seleção dos frutos maduros, descartando os frutos danificados e em fase de senescência avançada. Lavou-se os frutos em água contendo 200 mg de cloro ativo por litro em imersão durante 20 minutos. Em seguida, os frutos foram despulpados em uma despulpadeira bonina modelo 0.25 df ITAMETAL para a remoção da casca e da semente. A polpa extraída foi embalada em sacos de polietileno, selados em uma seladora Sulpack SP-350, e congelada a -20°C em freezer doméstico (Figura 7) para análises posteriores.



Figura 7- Polpa de noni embalada em sacos de polietileno e congelada.
(Fonte:rononi.com)

3.1.2 Preparações enzimáticas comerciais

As preparações enzimáticas comerciais utilizadas foram: Pectinex AR, Pectinex Ultra SP-L, Pectinex Yield Mach, Ultrazym AFP-L, Viscozyme L, Shearzyme 500L, AMG 300L, Citrozym L e Termamyl cedidas pela Novozymes Latin America Ltda e Biopectinase CCM, Biopectinase CT e Celluclast fornecida pela Quest international Ltda.



Figura 8 – Preparações enzimáticas comerciais
(Fonte: Antonia Alaís da Silva Correia)

3.2 Metodologia

O trabalho foi dividido em duas etapas: experimento 1 e experimento 2. Os frutos de noni utilizados nos dois experimentos foram provenientes da mesma região, mas colhidos em épocas diferentes. O lote 1 foi colhido em julho de 2007 e o lote 2 colhido em março de 2009.

3.2.1 Experimento 1

3.2.1.1 Caracterização da polpa de noni *in natura* – lote 1

Para a caracterização da polpa de noni *in natura* foram realizadas triplicatas para cada amostra as quais foram submetidas às seguintes determinações químicas: umidade,

cinzas, extrato etéreo, proteína, carboidratos, resíduos insolúveis em álcool (pectina, hemicelulose, celulose) e amido, cujas metodologias estão citadas no item 3.4.

3.2.1.2 Caracterização da atividade das preparações enzimáticas comerciais

Para determinar a atividade enzimática das preparações enzimáticas comerciais Pectinex AR, Pectinex Ultra SP-L, Ultrazym AFP-L, Viscozyme L, Shearzyme 500L, AMG 300L, Citrozym L, Biopectinase CCM, Biopectinase CT e Celluclast foram feitas duplicatas para cada amostra as quais foram submetidas às análises de poligalacturonases, pectinametilesterases, pectinaliasas, amilases, celulasas, xilanases e invertases citadas no item 3.5.

3.2.1.3 Maceração enzimática

O tratamento enzimático foi feito adicionando uma concentração pré-determinada de preparação enzimática à 50 g de polpa, em erlenmeyer. Em seguida agitou-se a mistura manualmente para que a preparação enzimática fosse misturada uniformemente na polpa e levou-se a mesma para incubação em um *shaker* orbital (150 rpm) por tempo e temperatura, também pré-determinados. Nas amostras controle foi adicionado água na mesma concentração em que a enzima foi adicionada na amostra macerada. Para cada amostra trabalhada foi feito um controle geral, sem incubação e outro controle com incubação, que serviram para comparação.

Ao final do tempo de agitação, as amostras foram submetidas a análises de teor de polpa, açúcares redutores e consistência.

Foram feitos vários tratamentos com diferentes preparações enzimáticas, diluições de polpa e concentrações de enzimas em temperatura pré-determinada e tempos de agitação distintos, seguindo a mesma metodologia descrita acima.

A representação das etapas de maceração está apresentada na Figura 9.

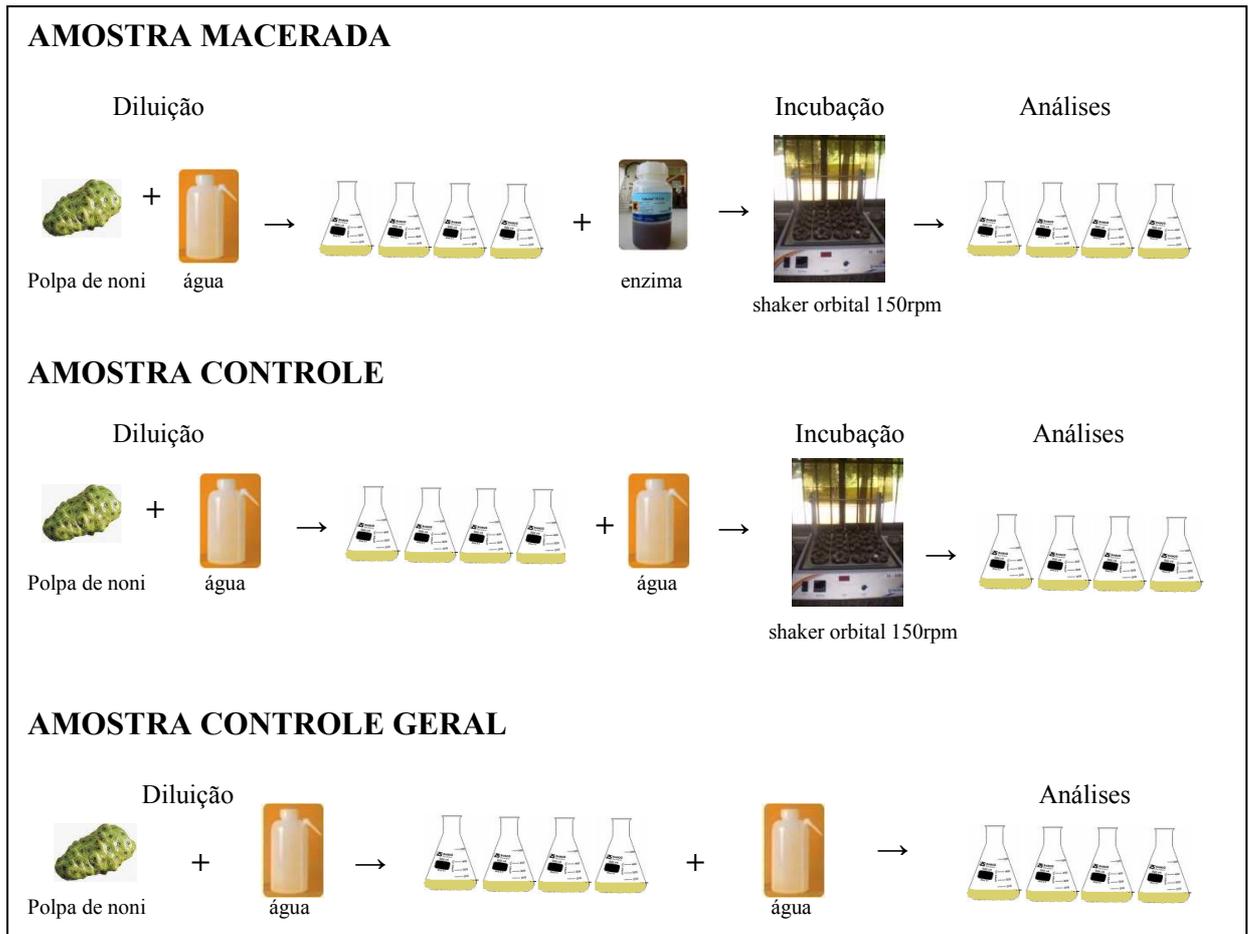


Figura 9- Esquema do tratamento enzimático das amostras maceradas e controle no experimento 1.

3.2.1.3.1 Seleção da preparação enzimática

Foi realizado o tratamento enzimático citado no item 3.2.1.3 de acordo com a Figura 7 com todas as dez preparações enzimáticas: Pectinex AR, Pectinex Ultra SP-L, Ultrazym AFP-L, Viscozyme L, Shearzyme 500L, AMG 300L, Citrozym L, Biopectinase CCM, Biopectinase CT e Celluclast. A polpa foi diluída (1:1) polpa:água adicionada de 2000 ppm de preparação enzimática, incubada a 30°C por 0, 1, 2 e 4 h. Em seguida, as amostras foram analisadas em relação aos ART (açúcares redutores totais), consistência e teor de polpa, citados no item 3.4., com duas repetições para cada amostra.

Após a conclusão desta primeira etapa, apenas a preparação enzimática comercial que demonstrou melhor desempenho na redução da consistência, foi selecionada para as próximas etapas, que consistiram em otimizar a maceração enzimática da polpa de noni.

3.2.1.3.2 Avaliação da adição de água

Com a preparação enzimática mais eficiente, na concentração de 2000 ppm, foram realizados seis tratamentos enzimáticos semelhantes ao citado no item 3.2.1.3, variando a diluição. As razões polpa:água foram (1:0); (1:0,5); (1:0,75); (1:1); (1:1,5) e (1:2) nos tempos de 0; 0,5; 1; 1,5 e 2h e temperatura de 30°C. Em seguida foram realizadas as análises de ART, consistência e teor de polpa citados no item 3.4. Foram realizadas duas repetições para cada amostra.

3.2.1.3.3 Influência da concentração de enzima

Após a determinação da preparação enzimática e da melhor diluição, foram realizados dez tratamentos enzimáticos semelhantes ao citado no item 3.2.1.3, variando a concentração de preparação enzimática, que foi de 200, 500, 1000, 1500, 2000, 4000, 8000, 12000, 16000 e 20000 ppm nos tempos de 0; 0,5; 1; 1,5 e 2 h a 30°C. Utilizando duas repetições para cada amostra, foram feitas as análises de ART, consistência e teor de polpa citadas no item 3.4.

3.2.2 Experimento 2

3.2.2.1 Caracterização da polpa de noni *in natura* – lote 2

Para a caracterização da polpa de noni *in natura* do lote 2 foram realizadas triplicatas de cada amostra as quais foram submetidas às seguintes análises químicas e físico-químicas: umidade, cinzas, extrato etéreo, proteína, carboidratos, sólidos solúveis totais (SST), pH, acidez total titulável (ATT), ratio (SST/ATT), vitamina C, açúcares totais e redutores, polifenóis extraíveis totais, atividade antioxidante total, atividade de água e

resíduos insolúveis em álcool (pectina, hemicelulose e celulose + lignina), cujas metodologias estão citadas no item 3.4.

3.2.2.2 Caracterização da atividade das preparações enzimáticas comerciais

Neste experimento 2 foram utilizadas 4 preparações enzimáticas, Viscozyme L, Termamyl, Ultrazym AFP-L e Pectinex Yield Mach. Para determinar a atividade enzimática destas preparações comerciais foram feitas duplicatas para cada amostra as quais foram submetidas às análises de poligalacturonases, pectinametilesterases, pectinaliasas, amilases, celulases e xilanases, seguindo a metodologia citada no item 3.5.

3.2.2.3 Planejamento experimental

Para aperfeiçoar o estudo da redução da consistência da polpa de noni através da adição de preparações enzimáticas comerciais foi utilizado um delineamento composto central, fatorial para avaliar o efeito combinado de três variáveis independentes, as quais foram o tempo de incubação, a temperatura e a concentração das preparações enzimáticas comerciais, codificadas respectivamente como x1, x2 e x3.

A faixa de estudo das variáveis tempo e concentração de preparação enzimática foi determinada com base no experimento 1. Os valores mínimo e máximo para o tempo de incubação foram fixados em 30 e 120 min, a temperatura de incubação de 30 e 45°C, enquanto que para a concentração de preparação enzimática foi 500 e 5000 ppm.

O delineamento completo consistiu de 17 combinações (incluindo três repetições do ponto central), e foram realizados de forma aleatória.

Cada preparação enzimática (Pectinex Yield Mach, Viscozyme L, AMG 300 L e Termamyl) foi submetida aos 17 tratamentos conforme a Tabela 3.

Tabela 3- Planejamento experimental com os níveis das variáveis e os tratamentos avaliados.

Tratamento	x1	x2	x3	t (min)	T (°C)	Conc. (ppm)*
1	-1	-1	-1	48	33	1400
2	1	-1	-1	102	33	1400
3	-1	1	-1	48	42	1400
4	1	1	-1	102	42	1400
5	-1	-1	1	48	33	4100
6	1	-1	1	102	33	4100
7	-1	1	1	48	42	4100
8	1	1	1	102	42	4100
9	-1,68	0	0	30	38	2800
10	1,68	0	0	120	38	2800
11	0	-1,68	0	75	30	2800
12	0	1,68	0	75	45	2800
13	0	0	-1,68	75	38	500
14	0	0	1,68	75	38	5000
15	0	0	0	75	38	2800
16	0	0	0	75	38	2800
17	0	0	0	75	38	2800

*Concentração das preparações enzimáticas

3.2.2.4 Maceração enzimática

O tratamento enzimático foi feito adicionando uma concentração de preparação enzimática (Tabela 3) à polpa diluída (com base na diluição selecionada no item 3.2.1.3.2), em erlenmeyer. Em seguida agitou-se a mistura manualmente para que a preparação enzimática fosse misturada uniformemente na polpa e levou-se a mesma para incubação em um *shaker* orbital (150 rpm) por tempo e temperatura de acordo com o planejamento experimental (Tabela 3). Para cada amostra realizada foi feito um controle adicionando água na mesma concentração em que a enzima foi adicionada na amostra macerada. Ao final da maceração procedeu-se a inativação das enzimas através de aquecimento à 80 °C/5 min. As amostras resultantes foram submetidas às determinações de ART e teor de polpa, cujas metodologias estão citados no item 3.4.

A representação das etapas de maceração está apresentada na Figura 10.

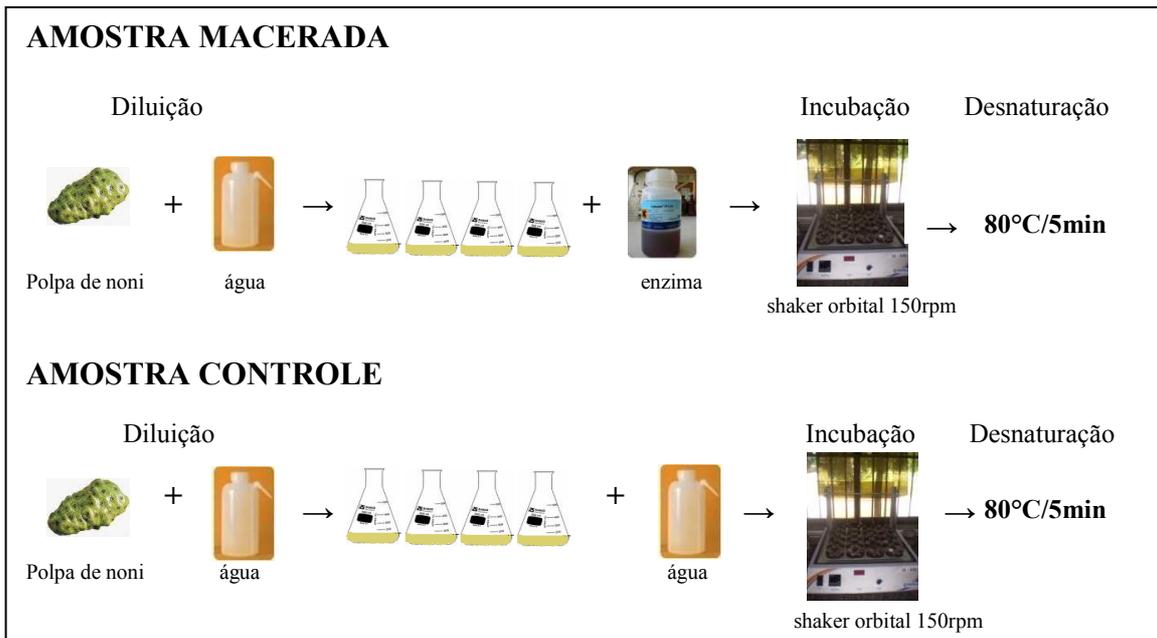


Figura 10- Esquema do tratamento enzimático das amostras maceradas e controle no experimento 2.

3.3 Tratamento estatístico

Os dados foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) para testar a diferença entre os valores encontrados e para a comparação das médias foi aplicado o teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Utilizou-se o programa Estatística Statsoft (Tulsa, Estados Unidos), Inc aplicativo computacional Statistica versão 7.0, 2004.

3.4 Métodos físico-químicos e químicos utilizados na caracterização das polpas

3.4.1 pH

As medidas de pH foram realizadas em pHmetro digital QUIMIS modelo Q400A, calibrado com soluções tampão de pH 7,0 e pH 4,0. Determinou-se o pH por imersão direta do eletrodo na polpa (IAL, 2005).

3.4.2 Umidade

Foi determinada pelo método descrito por IAL (2005). Pesou-se 3g da amostra em um cadinho de porcelana previamente tarado. Levou-se a estufa a vácuo a 70°C onde o material foi dessecado até peso constante. Relacionou-se a perda de peso para 100g da amostra integral, expressando os resultados em g.100g^{-1} de polpa.

3.4.3 Cinzas

As cinzas foram determinadas, segundo o método recomendado por IAL (2005). Pesou-se em cadinho de porcelana, previamente tarado, cerca de 2 g de polpa dessecada. Em seguida, as amostras foram carbonizadas a temperatura de 200°C e em seguida, incinerou-se a amostra em forno mufla à temperatura de 550°C. Deixou-se reduzir a temperatura da mufla até aproximadamente 80°C, quando então o cadinho contendo o material foi transferido para um dessecador. Resfriou-se e pesou-se a amostra para posterior cálculo da quantidade de cinzas obtida para 100 g da amostra integral, expressando os resultados em g.100g^{-1} de polpa.

3.4.4 Acidez total titulável (ATT)

Para a determinação de ATT adicionou-se 0,5 g de polpa diluída em 50 mL de água destilada. Depois de homogeneizada a solução foi filtrada com papel de filtro qualitativo e adicionou-se 2 a 3 gotas de indicador fenolftaleína. Em seguida, foi feita a titulação com solução de NaOH 0,1 M até a mudança de cor para róseo claro. Os resultados foram expressos em percentagem de ácido cítrico, segundo metodologia descrita pelo IAL (2005).

3.4.5 Sólidos solúveis totais (SST)

As determinações de sólidos solúveis foram feitas em refratômetro digital (ATAGO PR-101) com escala de 0 a 45 °Brix, através da leitura direta após filtração, em papel de filtro qualitativo, da amostra diluída 1:5 (p/p). Os resultados foram expressos °Brix, de acordo com o IAL (2005).

3.4.6 Açúcares redutores e totais

A determinação dos açúcares redutores foi realizada segundo MILLER (1959), utilizando o ácido 3,5 dinitrossalicílico (DNS). Os resultados expressos em percentual.

3.4.7 Atividade de água (AW)

A atividade de água foi determinada através do medidor digital de Aw (AQUALAB CX-2), com sensibilidade de 0,001 à temperatura de (28°C ± 2°C).

3.4.8 Polifenóis extraíveis totais

Os polifenóis foram analisados segundo a metodologia descrita por Singleton e Rossi (1965), com modificações. A determinação é feita pelo método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu utilizando ácido gálico como padrão de referência. Para obtenção do extrato utilizou-se uma diluição polpa:água (1:1), homogeneizou-se durante 1 minuto, centrifugou-se (3.000 rpm/ 10min) e filtrou-se. Em tubo de ensaio foram pipetados 100 µL do extrato e adicionado 900 µL de água, adicionados 1 ml do reagente Folin-Ciocalteu (1:9), agitado e mantido por 5 minutos para reagir. Adicionou-se 2 ml de carbonato de sódio (10%) e 2ml de água, novamente, foram agitados e mantidos por 30 minutos para reagir. Em

espectrofotômetro zerado com o controle (branco) foram feitas as leituras da absorvância no comprimento de onda de 765nm. O resultado é expresso em mg de ácido gálico/100g.

3.4.9 Vitamina C

A vitamina C foi determinada por titulação com solução de 2,6 dicloro-fenol-indofenol (DFI) 0,02% até coloração rósea claro permanente, de acordo com a metodologia de Strohecker e Henning (1967). Pesou-se 5 g de amostra e diluiu-se em 50 mL de ácido oxálico 1%. Os resultados foram expressos em $\text{mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ de polpa.

3.4.10 Proteína

A proteína foi determinada segundo o método micro Kjeldahl, recomendado pela AOAC (1992), que consiste na determinação do nitrogênio total. Os resultados foram expressos em $\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ de polpa.

3.4.11 Extrato etéreo

Determinou-se de acordo com o método descrito nas Normas Analíticas do IAL (2005). Pesou-se cerca de 2 g de polpa dessecada, transferiu-se quantitativamente para um cartucho de Soxhlet e cobriu-se a amostra com um pouco de algodão. Utilizando-se um balão volumétrico, previamente tarado, procedeu-se a extração em aparelho de Soxhlet, utilizando hexano como solvente, durante 6 h. Ao final deste período, evaporou-se o solvente e em seguida, colocou-se o balão volumétrico contendo o material lipídico em estufa regulada a 105°C, durante 1h. Esfriou-se em dessecador e pesou-se. Pela diferença de peso obteve-se a quantidade de substâncias lipídicas presentes na amostra sendo os resultados expressos em $\text{mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ de polpa.

3.4.12 Amido

Para a extração do amido foi utilizada a metodologia de hidrólise ácida. Pesou-se 5 gramas da amostra e adicionou-se aproximadamente 80 mL de água. O material foi centrifugado (3000 rpm/10 min) e lavado 3 vezes, descartando o sobrenadante. O resíduo obtido foi transferido para um Erlenmeyer (250 mL) com aproximadamente 150 mL de água e adicionou-se 5 mL de HCl (P.A). O material foi colocado no refluxo por 2 horas de fervura. Após este período o material foi resfriado, neutralizado com Na₂CO₃ (20 %) e filtrado, sendo o sobrenadante recebido em balão volumétrico de 250 mL o qual foi aferido com água destilada. A determinação foi feita pela dosagem de açúcares redutores, método do 3,5 dinitro salicilato (MILLER, 1959), multiplicando o resultado pelo fator 0,9 para transformá-lo em amido.

3.4.13 Pectina, hemicelulose, celulose + lignina

A pectina foi quantificada de acordo com a metodologia de Schieber, *et al.* (2005). A análise teve início com a pesagem de 30 g de polpa, que foram diluídas em 300 mL de etanol (80% v/v) em fervura, permanecendo em aquecimento por 1 h a 80°C. Centrifugou-se a solução a 15000 g a 40°C durante 10 min. O resíduo da centrifugação foi lavado com etanol 80% quente, em filtração a vácuo. O filtrado foi agitado a 150 rpm a 30°C com acetona, por 12 h. Em seguida filtrou-se com papel de filtro e secou-se em exaustor por 24 h. Assim obteve-se o AIR (resíduo insolúvel em álcool). Para isolamento da pectina, tomou-se 0,8 g do AIR que foi suspenso em 50 mL de solução alcalina de EDTA (0,05 M NaOH; 0,5 mM EDTA) e deixado sob agitação por 1 h a 30°C. Em seguida, centrifugou-se a 15000 g durante 20 min. Esta operação de adição de EDTA, agitação e centrifugação foi repetida, reservando o resíduo para o isolamento da hemicelulose. Os dois sobrenadantes da centrifugação foram somados e o pH foi ajustado para 6,5 com solução de HCl. Em seguida, o material obtido foi dializado utilizando membranas Dialysis tubing cellulose de tamanho 25 x 16 mm (SIGMA – ALDRICH) contra água destilada por 48 h. O material dializado foi adicionado em etanol comercial na proporção 3:1 (etanol/material dializado) para precipitação da celulose. O sistema ficou em repouso por 24h. Após o repouso, a solução foi centrifugada a

15000 g durante 20 min, seca (estufa a 60°C) e pesada. Para a obtenção da hemicelulose o resíduo reservado do isolamento da pectina foi lavado com 100 mL de água destilada, em filtração a vácuo, e agitada por 5 h com 50 mL de solução NaOH 16% (150 rpm/ 30°C). Em seguida, o material obtido foi centrifugado 15000 g durante 20 min e o resíduo reservado para quantificar a celulose. Ajustou-se o pH do sobrenadante para 6,5 usando solução de HCl e submeteu-se a solução resultante à diálise, repetindo as etapas de isolamento da pectina. A celulose + lignina foi determinada lavando-se o resíduo reservado do isolamento da hemicelulose, em filtração a vácuo, e adicionando-se 100 mL de água destilada. O material obtido foi dializado contra água, repetindo-se as etapas de precipitação em etanol comercial, centrifugação, secagem e pesagem do resíduo obtido. Após a pesagem, a amostra foi incinerada em forno mufla a 550°C. A quantificação final dos carboidratos foi realizada considerando a massa do AIR e da polpa, sendo os resultados finais expressos em g.100g⁻¹ de polpa. Na quantificação da celulose + lignina foi considerada a massa das cinzas.

3.4.14 Antioxidante

A atividade antioxidante foi avaliada através da atividade redutora frente ao radical ABTS^{•+}, o cátion do ácido 2,2'-azinobis-3-etil-benzotiazolino-6-sulfônico (ABTS), a partir da metodologia descrita por Re *et al.* (1999) com modificações. O radical ABTS^{•+} foi obtido pela reação de ABTS (7 mM, concentração final) com persulfato de potássio (140 mM, concentração final) após um período de 16 h a temperatura ambiente, no escuro. O radical formado foi diluído com etanol até absorvância de 0,7 ±0,05 a 734 nm.

Para obtenção do extrato, utilizou-se uma diluição polpa:água (1:1), homogeneizou-se durante 1 minuto, centrifugou-se a 3.000rpm por 10min e filtrou-se. A partir do extrato obtido, foi preparado quatro diluições utilizando as alíquotas 6, 4, 2, 1 ml em balões de 10ml, em duplicata. Em ambiente escuro, transferiu-se uma alíquota de 30 µL de cada diluição do extrato para tubos de ensaio e adicionou-se 3,0 mL do radical ABTS^{•+} e homogeneizou-se em agitador de tubos. Após 6 minutos de reação no escuro foi realizada a leitura espectrofotométrica do produto final a 734 nm, utilizando o álcool etílico, como branco.

3.4.15 Consistência

Foi feita com a utilização de um Consistômetro de Bostwick (CSC Scientific) e um cronômetro. Colocou-se 50 g de amostra na parte superior do consistômetro e disparou-se a lanca e o cronômetro ao mesmo tempo. Mediu-se a distância que as amostras percorreram através das marcas de graduação divididas em 0,5 centímetros na base do equipamento, no tempo de 30 segundos (BYU, 2006).

3.4.16 Teor de polpa

Esta análise foi feita segundo a metodologia de Koch (1971). Tomou-se 10 g de amostra, colocou-se em tubos cônicos graduados de polipropileno para centrifuga e levou-se para centrifugação (em centrífuga HERAEUS nas seguintes condições: 10 min, 12980 g e 23°C). Após a eliminação do sobrenadante, foram feitos os cálculos do teor de polpa por meio da diferença de peso da polpa, antes e depois da centrifugação, expressando o resultado em percentagem.

3.5 Métodos utilizados na caracterização da atividade das preparações enzimáticas

Essas análises foram realizadas no início e no meio do experimento, para avaliar a estabilidade das propriedades enzimáticas das preparações. Foram feitas duas repetições para cada amostra. As análises foram realizadas de acordo com as seguintes metodologias: poligalacturonases, xilanases, amilases e celulases segundo Couri *et al.* (2000); pectinametilesterases e pectinaliases de acordo com Jen e Robinson (1984).

3.5.1 Poligalacturonases

Adicionou-se 0,1 mL de preparação enzimática comercial diluída em 4,0 mL de solução de 0,25% de ácido poligalacturônico (tampão acetato 200 mM, pH 4,5) nos tubos de ensaio. Esta mistura reacional foi incubada por 30 minutos a 35°C em banho termostático (QUIMIS), com agitação suficiente para manter a mistura em suspensão da solução de ácido poligalacturônico, e assim, facilitar a ação da preparação enzimática. Ao final deste tempo, coletou-se uma alíquota de 0,1 mL da solução para tubos contendo 1,0 mL de DNS, paralisando a reação, homogeneizou-se, adicionou-se 0,9 mL de água destilada, homogeneizou-se novamente e aqueceu-se a 100°C por 5 minutos. Em seguida, foram colocados 8 mL de água, agitados e levados para leitura em espectrofotômetro a 540 nm. Os valores das absorvâncias foram relacionados às respectivas curvas padrões de DNS, segundo a metodologia de Miller (1959). Os resultados foram expressos em unidades por mL (U de enzima/mL). Uma unidade de atividade de poligalacturonase é definida como sendo aquela que libera 1 mmol de ácido galacturônico por minuto a 35°C.

3.5.2 Pectinametilesterases

Foram colocados 6 mL da preparação enzimática em tubos contendo 30 mL da solução de pectina cítrica 1%. Posteriormente, realizou-se uma etapa de ajuste do pH para 7,0 usando NaOH 0,01 M durante 10 min com auxílio de bureta, agitador magnético e pHmetro. Anotou-se o volume gasto de NaOH 0,01 M usado a partir da bureta e multiplicou-se pelo fator de correção do NaOH 0,01 M, por 1000 e pela diluição e, em seguida, dividindo-se por 60, obteve-se a quantidade de unidades de pectinametilesterases. Uma unidade de pectinesterase corresponde como a quantidade de enzima que libera 1 mmol de grupos carboxílicos por hora de reação.

3.5.3 Pectinaliases

Em tubos de ensaio adicionou-se 21 mL de tampão acetato 0,2M, pH 5,5; 2,5 mL de solução de pectina 2% e 0,5 mL de CaCl₂ 0,01M. Em seguida, os tubos foram aclimatados em banho termostático a 35°C, sob agitação, por 10 min. Ao atingir a temperatura, adicionou-se 1 mL da preparação enzimática. Após homogeneização uma alíquota da amostra foi transferida para uma cubeta e efetuou-se a leitura da absorbância em espectrofotômetro a 235 nm, referente à absorbância do branco reacional. O restante da amostra continuou na incubação com agitação por 10 min, realizando-se uma nova leitura, referente a absorbância do tempo 10. O cálculo das unidades de pectinaliases foi feito multiplicando-se a diferença das absorbâncias por 0,1818 e pela diluição. Uma unidade de pectinaliase corresponde a quantidade de enzima que libera 1 mmol de uronídeos insaturados.

3.5.4 Amilases

Em banho termostático a 37°C foi aclimatado 1 mL de solução 2% de amido e, em seguida, adicionou-se 1 mL de preparação enzimática comercial diluída, que foi incubada a 37°C por 15 min, sob agitação. Posteriormente, a reação foi paralisada com 0,5 mL de NaOH 1M e 1 mL desta solução foram então transferidos para tubos contendo 1 mL de DNS paralisando a reação, homogeneizou-se e aqueceu-se a 100°C por 5 minutos. Em seguida, foram colocados 8 mL de água, agitados e levados para leitura em espectrofotômetro a 540 nm. Os valores das absorbâncias foram relacionados às respectivas curvas padrões de DNS, segundo a metodologia de Miller (1959). Os resultados foram expressos em unidades por mL (U de enzima/mL). A unidade de amilase é definida como a quantidade de enzima que hidrolisa 10 mg de amido em 30 min e à temperatura de 37°C

3.5.5 Celulases

Foi colocado 0,9 mL de solução 1% de celulose em tubos e aclimatados em banho termostático a 40°C. Em seguida, adicionou-se 0,1 mL de preparação enzimática comercial diluída, incubando, sob agitação, por 60 min a 40°C. Para a paralisação da reação, foi adicionado 1 mL de DNS homogeneizou-se e aqueceu-se a 100°C por 5 minutos. Em seguida, foram colocados 8 mL de água, agitados e levados para leitura em espectrofotômetro a 540 nm. Os valores das absorbâncias foram relacionados às respectivas curvas padrões de DNS, segundo a metodologia de Miller (1959). Os resultados foram expressos em unidades por mL (U de enzima/mL). Uma unidade de atividade de celulase corresponde à quantidade de enzima que libera 1 mmol de glicose por minuto.

3.5.6 Xilanases

Colocou-se 0,5 mL de solução 1% de xilana em tubos e aclimatou-se em banho termostático à 60°C. Depois adicionou-se 0,5 mL de preparação enzimática comercial e incubou-se por 10 minutos a 60°C, sob agitação. Paralisou-se a reação com adição de 1 mL de DNS, homogeneizou-se e aqueceu-se a 100°C por 5 minutos. Em seguida, foram colocados 8 mL de água, agitados e levados para leitura em espectrofotômetro a 540 nm. Os valores das absorbâncias foram relacionados às respectivas curvas padrões de DNS, segundo a metodologia de Miller (1959). Os resultados foram expressos em unidades por mL (U de enzima/mL). Uma unidade de atividade de xilanase corresponde à quantidade de enzima que produz 1 mmol de açúcar redutor (como glicose) por minuto a 50°C.

3.5.7 Invertases

Adicionou-se 0,5 mL de solução sacarose 0,1 M a 0,4 mL de tampão acetato 100 mM com pH 5,0. Em seguida, adicionou-se 0,1 mL de preparação enzimática comercial diluída, que foram incubados por 30 min a 30°C, sob agitação. Paralisou-se a reação com

adição de 1 mL de DNS, homogeneizou-se e aqueceu-se a 100°C por 5 minutos. Em seguida, foram colocados 8 mL de água, agitados e levados para leitura em espectrofotômetro a 540 nm. Os valores das absorbâncias foram relacionados às respectivas curvas padrões de DNS, segundo a metodologia de Miller (1959). Os resultados foram expressos em unidades por mL (U de enzima/mL). Uma unidade de atividade de invertase corresponde à quantidade de enzima capaz de liberar 1 mmol de grupos redutores (como glicose), por minuto.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Experimento 1

4.1.1 Caracterização da polpa de noni *in natura* – lote 1

Na Tabela 4 estão apresentados os valores obtidos com a caracterização química da polpa de noni *in natura*.

Tabela 4- Caracterização da polpa de noni *in natura*- lote1

Características	Valores ¹
Composição centesimal	
• Umidade (g. 100g ⁻¹)	89,44 ± 0,01
• Cinzas (g. 100g ⁻¹)	0,80 ± 0,01
• Extrato etéreo (g. 100g ⁻¹)	0,33 ± 0,10
• Proteína (g. 100g ⁻¹)	0,68 ± 0,02
• Carboidrato total ² (g. 100g ⁻¹)	8,76 ± 0,10
Valor calórico em Kcal ³	40,74 ± 0,47
AIR ⁴ (g. 100g ⁻¹)	3,26 ± 0,39
• Pectina* (g. 100g ⁻¹)	1,76 ± 0,21
• Hemicelulose* (g. 100g ⁻¹)	0,65 ± 0,10
• Celulose + Lignina* (g. 100g ⁻¹)	0,88 ± 0,10
Amido (g. 100g ⁻¹)	3,1 ± 0,10

¹Valores médios obtidos a partir da análise de 3 amostras em base úmida; ²Carboidratos totais = 100 – (Umidade + Extrato Etéreo + Proteína + Cinzas); ³Valor calórico= (carboidratos*4 + proteína*4 + lipídeos*9); ⁴AIR = Resíduos insolúveis em álcool; * Pectina, Hemicelulose ou celulose + lignina = (Peso do resíduo seco x Peso do AIR) / (0,8g / Peso da amostra) x100 (Segundo SCHIEBER *et al.*, 2005).

A água é o maior componente do noni, variando entre 90 e 92 %. O valor de umidade encontrado no presente estudo foi de 89,44 g.100g⁻¹, estando de acordo com valores encontrados por Chan-Blanco *et al.* (2006) e Chan-Blanco *et al.* (2007), 90 g.100g⁻¹ e 91,8 g.100g⁻¹, respectivamente.

O teor médio de proteína encontrado na polpa de noni foi de $0,68 \text{ g.}100\text{g}^{-1}$ (Tabela 4). Este resultado foi próximo a $0,4 \text{ g.}100\text{g}^{-1}$ encontrado por Shovic e Whistler (2001) e inferior a $2,5 \text{ g.}100\text{g}^{-1}$ encontrado por Chunhieng (2003).

O valor de extrato etéreo $0,33 \text{ g.}100\text{g}^{-1}$ (Tabela 4) foi semelhante ao relatado por Shovic e Whistler (2001) e maior que os valores relatados por Chunhieng (2003) e Chan-Blanco *et al.* (2007), $0,15 \text{ g.}100\text{g}^{-1}$ e $0,016 \text{ g.}100\text{g}^{-1}$, respectivamente.

Os diferentes valores encontrados pelos diversos autores se devem ao fato de haver variações de clima, solo, ponto de maturação e armazenamento de cada região onde foram colhidos os frutos.

O valor energético da polpa de noni é de $40,74 \text{ Kcal.}100\text{g}^{-1}$ de polpa, em quase totalidade determinado pelos carboidratos $8,76 \text{ g.}100\text{g}^{-1}$, pois os teores de proteínas e lipídeos apresentam valores baixos, como observado na Tabela 4.

O conteúdo de resíduos insolúveis em álcool (AIR – “*alcohol insoluble residues*”) foi quantificado em $3,26 \text{ g.}100\text{g}^{-1}$, na sua maior parte determinado por pectina $1,76 \text{ g.}100\text{g}^{-1}$, pois o conteúdo de hemicelulose e celulose + lignina, foram $0,65 \text{ g.}100\text{g}^{-1}$ e $0,88 \text{ g.}100\text{g}^{-1}$, respectivamente.

4.1.2 Caracterização da atividade das preparações enzimáticas comerciais

As preparações enzimáticas comerciais foram caracterizadas em função da atividade de enzimas. Na Tabela 5 apresenta-se os valores de atividade determinados para as preparações enzimáticas comerciais estudadas.

Tabela 5- Caracterização das atividades das preparações enzimáticas comerciais ¹.

Preparação Enzimáticas	PG² (U.mL⁻¹)	PL³ (U.mL⁻¹)	PME⁴ (U.mL⁻¹)	Amilases (U.mL⁻¹)	Celulases (U.mL⁻¹)	Xilanases (U.mL⁻¹)	Invertases (U.mL⁻¹)
Pectinex Ultra SP-L	500,49c	17,16b	18,90b,c	24,86c,d	5,84b	48,44b,c	49,14b
Pectinex AR	408,48c	1,45d	3,58c	20,20c,d	8,90b	176,5b,c	17,95e
Viscozyme L	548,68c	25,34a	61,26a	171,55b	11,46b	58,56b,c	232,54a
Shearzyme 500L	947,73a,b	0,57d	8,47c	25,97c	1,83b	6234,07a	6,78f
Ultrazym AFP-L	833,14b	6,32c	29,98b	1,21g	16,08b	74,46b,c	17,12e
Citrozym L	941,66a,b	1,02d	17,60b,c	17,91d,e	65,47a	211,50b	34,33d
Celluclast	ND*	0,16d	16,95b,c	1,37g	74,44a	174,88b,c	0,20g
AMG 300L	21,57d	0,45d	50,84a	237,85a	ND*	17,14c	47,67b,c
Biopectinase CCM	1022,55a	0,16d	18,25b,c	11,79e,f	ND*	62,12b,c	42,38c
Biopectinase CT	1046,81a	0,27d	5,21c	5,44f,g	ND*	21,30c	42,87b,c

¹ Valores médios obtidos a partir da análise em duplicata. Médias seguidas da mesma letra nas colunas não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ao nível de 5%. ² PG = poligalacturonase; ³ PL = pectinialise; ⁴ PME = pectinametilesterase.* N.D. = Não detectada.

A preparação enzimática comercial Biopectinase CT foi a que apresentou maior atividade de PG, não apresentando diferença significativa ($p > 0,05$) das preparações enzimáticas Biopectinase CCM, Shearzyme L 500L e Citrozym L. Estas duas últimas preparações enzimáticas não se mostraram diferentes de Ultrazym AFP-L. Contudo todas as preparações enzimáticas citadas acima apresentaram-se diferente significativamente ($p \leq 0,05$) de Viscozyme L, Pectinex Ultra SP-L e Pectinex AR. A preparação enzimática AMG 300L apresentou o menor valor de PG, sendo diferente estatisticamente ($p \leq 0,05$) das demais (Tabela 5).

Todas as preparações enzimáticas analisadas apresentaram baixa atividade em relação à PL. Contudo a Viscozyme L apresentou a maior atividade, de 25,34 U.mL⁻¹, sendo diferente significativamente ($p \leq 0,05$) de todas as outras. A Pectinex Ultra SP-L apresentou a segunda maior concentração (17,16 U.mL⁻¹), destacando-se junto à Viscozyme L. As outras apresentaram valores bem abaixo, entre 6,23 e 0,16 U.mL⁻¹, não sendo observada diferença significativa entre elas ($p > 0,05$) (Tabela 5).

As preparações enzimáticas Viscozyme L e AMG 300L se destacaram pela maior atividade de PME e não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre elas, mas diferenciaram-se das demais. Foram seguidas por Ultrazym AFP-L, Pectinex Ultra SP-L, Biopectinase CCM, Citrozym L e Celluclast, onde não foi encontrada diferença significativa ($p > 0,05$) entre elas. Com exceção da Ultrazym AFP-L, as preparações enzimáticas Pectinex

AR, Shearzyme 500L e Biopectinase CT também não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$) (Tabela 5).

Como já era esperado, por ter atividade declarada da enzima amilase, a melhor preparação enzimática, em relação à amilase foi a AMG 300L ($237,85 \text{ U.mL}^{-1}$). Viscozyme L também apresentou alta concentração de amilases ($171,55 \text{ U.mL}^{-1}$), apesar ser diferente significativamente ($p \leq 0,05$) da AMG 300L. As demais preparações enzimáticas obtiveram valores menores, entre $22,97$ e $1,21 \text{ U.mL}^{-1}$.

Nas preparações enzimáticas Citrozym L e Celluclast foram detectadas as maiores atividades da celulase e não foi encontrada diferença significativa ($p > 0,05$) entre elas. Pectinex Ultra SP-L, Pectinex AR, Viscozyme L, Shearzyme 500L e Ultrazym AFP-L apresentaram valores menores, com diferença significativa ($p \leq 0,05$) daquelas que se destacaram, mas não havendo diferença entre elas.

Shearzyme 500L apresentou alta atividade de xilanases. As outras preparações, apesar de terem xilanases, não atingiram valores próximos ao de Shearzyme 500L (Tabela 5).

A preparação enzimática comercial Viscozyme L foi a que apresentou maior atividade invertase, encontrando diferença significativa ($p \leq 0,05$) com todas as outras preparações enzimáticas. Pectinex Ultra SP-L foi a que apresentou a segunda maior concentração, não diferindo significativamente ($p > 0,05$) da AMG 300L e da Biopectinase CT. Estas duas últimas não se mostraram diferentes ($p > 0,05$) da Biopectinase CCM.

No geral, Viscozyme L apresentou-se com maior concentração de PL, PME e invertases, além de quantidades consideráveis nas demais enzimas analisadas, podendo ser considerada a mais completa de todas. Enquanto que a Celluclast apresentou valores baixos e pode ser julgada com a que contém menor atividade enzimática, em relação às demais.

Em um estudo realizado por Spagnuolo *et al.* (1997), foi feito a caracterização de algumas preparações enzimáticas comerciais, onde relataram $779,2$; $523,1$ e $1,8 \text{ U.mL}^{-1}$ de PL e PME juntas, $3,7$; $32,8$ e $1,7 \text{ U.mL}^{-1}$ de hemicelulases e $2335,1$; $2313,9$ e $5,9 \text{ U.mL}^{-1}$ de PG nas preparações Pectinex, Viscozyme e Celluclast, respectivamente.

Sabendo que a polpa de noni apresenta pectina, hemicelulose, celulose e amido (Tabela 4), as preparações enzimáticas comerciais escolhidas para o presente trabalho podem agir em favor da maceração da polpa de noni, com destaque nas preparações enzimáticas com maior quantidade de pectinases e amilases devido à maior concentração de pectina e amido na polpa de noni, em relação à hemicelulose e celulose.

4.1.3 Maceração enzimática

4.1.3.1 Seleção da preparação enzimática

Foi estudada a eficiência de diferentes preparações enzimáticas em relação à maceração da polpa de noni diluída (1:1) polpa:água. As Figuras 11 e 12 representam os resultados das análises de consistência para a escolha da preparação enzimática comercial na maceração da polpa de noni.

Os resultados dos experimentos controles, onde a polpa de noni foi incubada sem a adição de enzima, comparada aos resultados dos experimentos macerados, ou seja, com adição de preparações enzimáticas, mostram que o aumento no fluxo da polpa está associado à adição das enzimas exógenas.

A adição de 2000 ppm de preparação enzimática promoveu diminuição na consistência da polpa a partir de 1 hora de incubação para a maioria das amostras, observado por apresentarem fluxo de polpa muito superior aos das amostras controle (sem enzima adicionada), indicando que, sem a adição destas preparações enzimáticas, a redução na consistência da polpa não seria promovida.

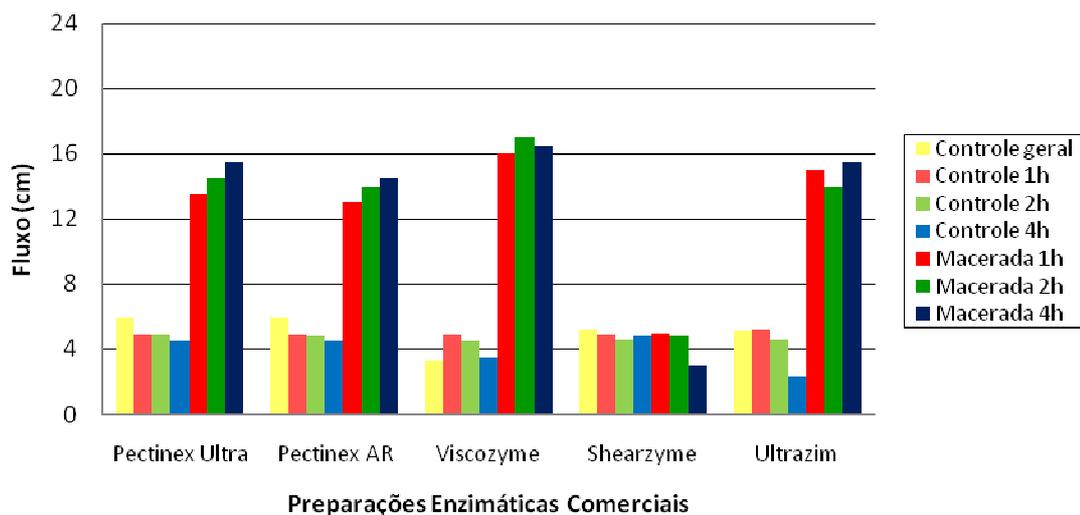


Figura 11- Consistência da polpa de noni diluída (1:1), macerada com 2000 ppm de diferentes preparações enzimáticas a 30°C por até 4h. Amostras: controle geral (polpa sem adição de preparação enzimática, sem incubação); controle 1h (polpa sem adição de preparação enzimática, 1h de incubação); controle 2h (polpa sem adição de preparação enzimática, 2h de incubação); controle 4h (polpa sem adição de preparação enzimática, 4h de incubação); macerada 1h (polpa com adição de preparação enzimática, 1h de incubação); macerada 2h (polpa com adição de preparação enzimática, 2h de incubação) e macerada 4h (polpa com adição de preparação enzimática, 4h de incubação).

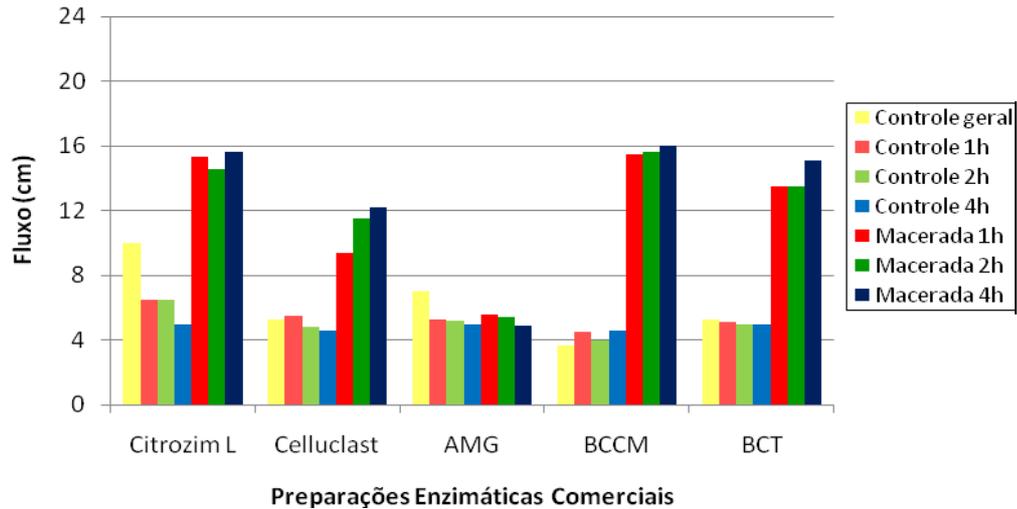


Figura 12- Consistência da polpa de noni diluída (1:1), macerada com 2000 ppm de diferentes preparações enzimáticas, a 30°C por até 4h. Amostras: controle geral (polpa sem adição de preparação enzimática, sem incubação); controle 1h (polpa sem adição de preparação enzimática, 1h de incubação); controle 2h (polpa sem adição de preparação enzimática, 2h de incubação); controle 4h (polpa sem adição de preparação enzimática, 4h de incubação); macerada 1h (polpa com adição de preparação enzimática, 1h de incubação); macerada 2h (polpa com adição de preparação enzimática, 2h de incubação) e macerada 4h (polpa com adição de preparação enzimática, 4h de incubação).

Com exceção das preparações enzimáticas Shearzyme 500L, AMG 300L e Celluclast, todas as preparações enzimáticas avaliadas registraram elevada redução na consistência da polpa de noni, segundo a metodologia do aparato de Bostwick, ou seja, as polpas maceradas apresentaram elevados valores de fluxo (>15 cm) após 30 segundos depois da abertura da armadilha. Contudo, as polpas adicionadas das preparações Biopectinase CCM e Viscozyme L atingiram os maiores valores de fluxos no final do tratamento 16,0 e 16,5, respectivamente.

Na polpa tratada com Shearzyme e AMG houve uma redução da distância do escorrimento. As preparações enzimáticas Viscozyme, Biopectinase CCM, Ultrazim, Biopectinase CT, Pectinex Ultra, Pectinex AR, Celluclast e Citrozim aumentaram a distância de escorrimento com respectivamente 13,2 cm; 12,3 cm; 10,4 cm; 9,8 cm; 9,6 cm; 8,6 cm; 6,9 cm e 5,6 cm. O aumento da distância percorrida representa redução na consistência da polpa, desta forma, ao final desta etapa selecionou-se a preparação enzimática Viscozyme L como a que apresentou maior redução na consistência da polpa de noni.

Observou-se uma redução do fluxo na amostra macerada com Viscozyme L durante 4 h, mostrando que o tempo de 2 h já é suficiente para que essa preparação enzimática possa atuar na redução da consistência da polpa de noni.

As amostras maceradas obtiveram aumento significativo na concentração dos açúcares redutores totais em relação aos seus controles (Tabela 6), apresentando uma

tendência de aumento dos açúcares redutores após a maceração. Este fato pode ser atribuído a liberação de resíduos de ácidos galacturônicos devido à atividade das enzimas pectinases presentes nas preparações enzimáticas.

As preparações enzimáticas aumentaram o teor de açúcares redutores em torno de 13%, com exceção da Shearzyme e da AMG onde o aumento foi de apenas 7%.

Tabela 6- Valores dos açúcares redutores totais (ART) da polpa de noni maceradas com diferentes preparações enzimáticas comerciais¹.

Amostras	ART (mg/g)				
	Polpa com Pectinex Ultra SP-L	Polpa com Pectinex AR	Polpa com Viscozyme L	Polpa com Sherazyme 500L	Polpa com Ultrazym AFP-L
Controle geral ²	25,58±0,16 c	23,62±0,14e	23,46±0,39c	24,45±0,22c	26,86±0,04c
Controle 1h ³	25,53±0,03c	24,49±0,20d	19,31±0,17e	25,66±0,11b	23,57±0,16d
Controle 2h ⁴	23,35±0,04d	25,69±0,11c	23,23±0,00c,d	25,07±0,15b,c	26,04±0,46c
Controle 4h ⁵	26,86±0,56b	22,73±0,10f	22,44±0,33d	26,61±0,23a	28,32±0,27b
Macerada 1h ⁶	24,82±0,02c	28,31±0,18a	23,67±0,17c	21,70±0,20d	26,67±0,06c
Macerada 2h ⁷	27,46±0,18b	26,40±0,34b,c	25,26±0,02b	26,75±0,13a	28,44±0,09b
Macerada 4h ⁸	29,36±0,32a	26,93±0,20b	26,83±0,30a	26,40±0,21a	31,43±0,05a
Amostras	Polpa com Citrozym L	Polpa com Celluclast	Polpa com AMG 300L	Polpa com Biopectinase CCM	Polpa com Biopectinase CT
Controle geral ²	23,38±0,16d	24,39±0,24d	27,10±0,05b,c	22,68±0,40c,d	24,17±0,04c
Controle 1h ³	23,76±0,13c,d	22,12±0,11e	26,47±0,29c,d	23,41±0,10b,c	21,92±0,38d
Controle 2h ⁴	24,41±0,22b,c	24,98±0,15d	26,43±0,24d	19,79±0,10f	24,66±0,06b,c
Controle 4h ⁵	24,52±0,32b	25,66±0,22c	23,57±0,10e	22,41±0,02d	25,43±0,29b
Macerada 1h ⁶	25,16±0,16b	26,63±0,03b	27,54±0,04b	20,21±0,20e	27,13±0,41a
Macerada 2h ⁷	29,93±0,06a	25,77±0,12c	27,70±0,15b	25,76±0,06a	27,95±0,23a
Macerada 4h ⁸	29,37±0,19a	28,26±0,06a	29,27±0,10a	23,60±0,38b	27,34±0,40a

¹ Valores médios obtidos a partir de duplicatas de amostras. ² Polpa de noni sem adição de preparação enzimática, sem incubação. ³ Polpa de noni sem adição de preparação enzimática, 1h de incubação. ⁴ Polpa de noni sem adição de preparação enzimática, 2h de incubação. ⁵ Polpa de noni sem adição de preparação enzimática, 4h de incubação. ⁶ Polpa de noni com adição de preparação enzimática, 1h de incubação. ⁷ Polpa de noni com adição de preparação enzimática, 2h de incubação. ⁸ Polpa de noni com adição de preparação enzimática, 4h de incubação. *Médias seguidas da mesma letra nas colunas não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

As análises de teor de polpa (Tabela 7) reforçam ainda mais o fato de que a redução na consistência da polpa de noni tenha ocorrido pela adição das preparações enzimáticas, uma vez que as amostras maceradas apresentaram novamente uma tendência a reagirem diferentes significativamente das amostras controle, sendo que, desta vez diminuindo. Esta redução do teor de polpa com a maceração ocorreu, provavelmente, devido

ao rompimento das estruturas da parede celular dos tecidos da polpa liberando a fase aquosa (suco). Uma fração da pectina, chamada fração solúvel, distribui-se nesta fase aquosa e a fração insolúvel, permanece ligada a parede celular, compondo a polpa (SILVA; FRANCO; GOMES, 1997).

Tabela 7- Valores do teor de polpa das amostras de polpa de noni maceradas com diferentes preparações enzimáticas comerciais¹.

Amostras	Teor de polpa (%)				
	Polpa com Pectinex Ultra SP-L	Polpa com Pectinex AR	Polpa com Viscozyme L	Polpa com Sherazyme 500L	Polpa com Ultrazym AFP-L
Controle geral ²	24,25±0,38a	20,97±0,00a,b	24,50±0,06a	21,07±0,37b	23,30±0,40b
Controle 1h ³	24,32±0,17a	23,49±0,31a	21,82±0,34b	23,16±0,21a	22,88±0,51b
Controle 2h ⁴	22,02±0,01a	24,39±0,15a	23,08±0,48a,b	22,86±0,00a	24,34±1,13b
Controle 4h ⁵	24,11±4,58a	20,71±2,61a,b	23,01±0,28a,b	23,75±0,08a	27,96±0,14a
Macerada 1h ⁶	14,98±0,33b	17,69±0,27b	11,90±0,90c	20,20±0,21b	14,49±0,23c
Macerada 2h ⁷	17,85±3,09a,b	19,65±2,34a,b	13,71±0,47c	23,50±0,38a	13,71±0,10c
Macerada 4h ⁸	15,94±0,66a,b	17,32±0,14b	13,62±0,09c	23,35±0,18a	15,96±1,61c
Amostras	Teor de polpa (%)				
	Polpa com Citrozym L	Polpa com Celluclast	Polpa com AMG 300L	Polpa com Biopectinase CCM	Polpa com Biopectinase CT
Controle geral ²	17,54±0,16c	21,89±0,04b	25,14±2,06a	24,06±0,42a,b	23,88±0,31a
Controle 1h ³	19,93±0,00b	22,03±0,19b	22,77±0,27a,b	25,32±1,19a	21,92±0,42b
Controle 2h ⁴	21,33±0,14a	23,47±0,01a	22,72±0,00a,b	22,75±1,37a,b,c	24,10±0,31a
Controle 4h ⁵	20,48±0,11a,b	23,69±0,09a	20,48±0,27b	23,84±0,77a,b	24,14±0,68a
Macerada 1h ⁶	14,71±0,12e	20,77±0,02c	23,37±0,79a,b	14,24±0,41b,c	16,08±0,31c
Macerada 2h ⁷	16,57±0,75c,d	19,80±0,42d	23,09±1,02a,b	12,02±7,02c	15,82±0,27c
Macerada 4h ⁸	15,68±0,26d,e	19,29±0,11d	24,03±0,38a,b	15,31±1,05a,b,c	16,40±0,14c

¹ Valores médios obtidos a partir de duplicatas de amostras. ² Polpa de noni sem adição de preparação enzimática, sem incubação. ³ Polpa de noni sem adição de preparação enzimática, 1h de incubação. ⁴ Polpa de noni sem adição de preparação enzimática, 2h de incubação. ⁵ Polpa de noni sem adição de preparação enzimática, 4h de incubação. ⁶ Polpa de noni com adição de preparação enzimática, 1h de incubação. ⁷ Polpa de noni com adição de preparação enzimática, 2h de incubação. ⁸ Polpa de noni com adição de preparação enzimática, 4h de incubação. *Médias seguidas da mesma letra nas colunas não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

As preparações enzimáticas Viscozyme L, BCCM, Pectinex Ultra, BCT, Ultrazim, Pectinex AR, Celluclast, Citrozim e AMG reduziram o teor de polpa em 44, 36, 34, 31, 31, 17, 11, 10 e 4 % respectivamente. Apenas a Shearzyme não reduziu. Portanto, a preparação enzimática mais eficiente na redução do teor de polpa do noni foi a Viscozyme L.

O aumento nos açúcares redutores das amostras não foi proporcional à redução do teor de polpa devido ao fato de que a hidrólise dos carboidratos originou uma série de

produtos intermediários incluindo poli e oligossacarídeos, formados de resíduos de açúcares redutores, que o método do DNS não foi capaz de identificar (WOOD; BHAT, 1988).

A amostra macerada com Viscozyme L durante 4 h apresentou mesmo valor de teor de polpa que a amostra macerada 2 h, porém não diferindo estatisticamente entre si ($p > 0,05$) (Tabela 7), estando este resultado de acordo com a análise de consistência, pois comprova que o tempo de 2 h é suficiente para que a Viscozyme L possa agir de maneira eficaz na redução do teor de polpa do noni.

A preparação enzimática Viscozyme L foi a preparação enzimática mais eficiente para o tratamento enzimático da polpa de noni. Isso ocorreu provavelmente pelo fato da Viscozyme L apresentar uma maior atividade de pectinases e amilases em sua composição, as quais atuam na polpa de noni realizando a hidrólise da pectina e do amido, sendo coerente com os dados apresentados na Tabela 4, os quais indicam que a polpa de noni possui uma quantidade considerada destes componentes.

Aquino (2008) e Moura (2009) mostraram que a preparação enzimática Viscozyme L foi também a mais eficiente para o tratamento enzimático da polpa de bacuri e cajá respectivamente.

Landbo, Kaack e Meyer (2007) utilizaram cinco preparações enzimáticas em estudo de maceração enzimática de suco do fruto do sabugueiro. A preparação enzimática Pectinex BE 3L, produziu um máximo rendimento do suco de 77%. O nível de turbidez diminuiu 30% após a maceração em comparação com a amostra controle.

Wilkins *et al.* (2007) observaram uma redução no rendimento das cascas de uva utilizando a seguinte combinação de preparações enzimáticas: Pectinex Ultra SP-L, Celluclast e Novozym 188, onde foi liberado uma quantidade maior de suco.

4.1.3.2 Avaliação da adição de água

Foi avaliado o desempenho da Viscozyme L através de uma maior variação de diluições, com o objetivo de encontrar a menor diluição, visto que, apesar da adição de água melhorar a ação da preparação enzimática na polpa, também promove um aumento no volume, desfavorável em relação ao processamento industrial. Foi estudada também uma maior variação com um tempo menor de incubação, pois o tempo é fator relevante em escala industrial.

Na Figura 13 são apresentados os resultados da análise de consistência para a escolha da melhor diluição da polpa de noni. Observa-se um aumento no fluxo, ou seja, uma crescente redução da consistência das amostras à medida que a água é adicionada, tendo as amostras maceradas melhor efeito sobre as amostras controles.

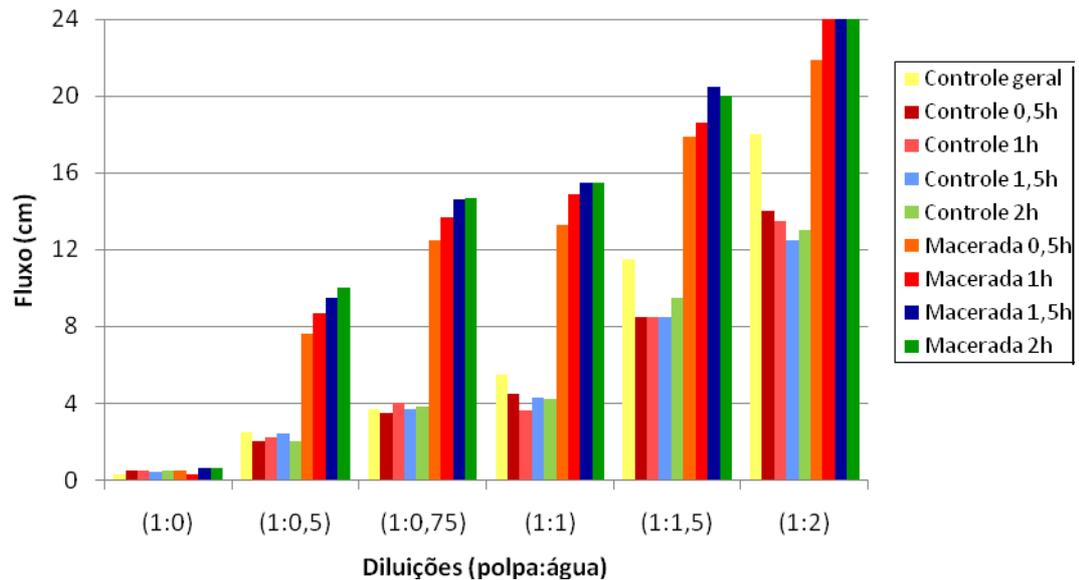


Figura 13- Consistência da polpa de noni diluída com diferentes proporções, macerada com 2000 ppm de Viscozyme L a 30°C por até 2h. Amostras: controle geral (polpa sem adição de preparação enzimática, sem incubação); controle 0,5h (polpa sem adição de preparação enzimática, 0,5h de incubação); controle 1h (polpa sem adição de preparação enzimática, 1h de incubação); controle 1,5h (polpa sem adição de preparação enzimática, 1,5h de incubação); controle 2h (polpa sem adição de preparação enzimática, 2h de incubação); macerada 0,5h (polpa com adição de preparação enzimática, 0,5h de incubação); macerada 1h (polpa com adição de preparação enzimática, 1h de incubação); macerada 1,5h (polpa com adição de preparação enzimática, 1,5h de incubação) e macerada 2h (polpa com adição de preparação enzimática, 2h de incubação).

As amostras controles e maceradas sem adição de água, ou seja, com diluição polpa:água (1:0) obtiveram o mesmo comportamento, não apresentando aumento no fluxo. Através deste tratamento (1:0) pode-se observar o quanto a polpa de noni é consistente, pois a distância percorrida pela polpa é quase zero. É mostrado na Figura 11 que somente as amostras diluídas em água reagiram positivamente em relação à redução de consistência da polpa a partir da maceração enzimática. Desta forma, é necessário adicionar água à polpa de noni para que as enzimas possam atuar na redução da consistência da polpa de noni.

A adição de água pode descaracterizar o produto, se este for um suco, pois a designação de suco de acordo com a legislação não pode ter adição de água. Dessa forma, este produto pode ser definido apenas como Suco Tropical que é o produto obtido pela dissolução, em água potável, da polpa da fruta polposa de origem tropical, por meio de processo tecnológico adequado, não fermentado, de cor, aroma e sabor característicos da fruta,

submetido a tratamento que assegure sua conservação e apresentação até o momento do consumo (BRASIL, 2003).

A maioria das amostras maceradas com diluição polpa:água (1:2) atingiram o limite de detecção do consistômetro (24cm) antes do término da análise (30s). Este fato torna o resultado desconhecido e, conseqüentemente impossibilita a conclusão precisa da análise, pois a medida real do fluxo para essas amostras é maior que 24 cm. Esta alta redução da consistência ocorreu, provavelmente, devido à elevada quantidade de água na polpa. Assim, podemos afirmar que a diluição 1:2 não é adequada para o estudo da maceração da polpa de noni utilizando o consistômetro de Bostwick.

As amostras maceradas 2h comparadas com seus respectivos controle geral, diluídas (1:0,75), (1:1), (1:1,5) e (1:0,5) aumentaram a distância de escorrimento com respectivamente 11 cm; 10 cm; 8,5 cm e 7,5 cm. Sendo a diluição (1:0,75) a condição que apresentou maior redução na consistência da polpa de noni.

As amostras maceradas com diluição polpa:água (1:0,75) e (1:1) apresentaram valores muito próximos entre si, obtendo elevada redução da consistência, quando comparadas com seus respectivos controles. Como o objetivo é selecionar a amostra com menor diluição que promova uma eficiente maceração, foi selecionada a amostra com diluição polpa:água (1:0,75).

Na figura 14 é apresentado o consistômetro de Bostwick com a polpa de noni diluída em diferentes proporções adicionada da preparação enzimática Viscozyme L, por 2h.

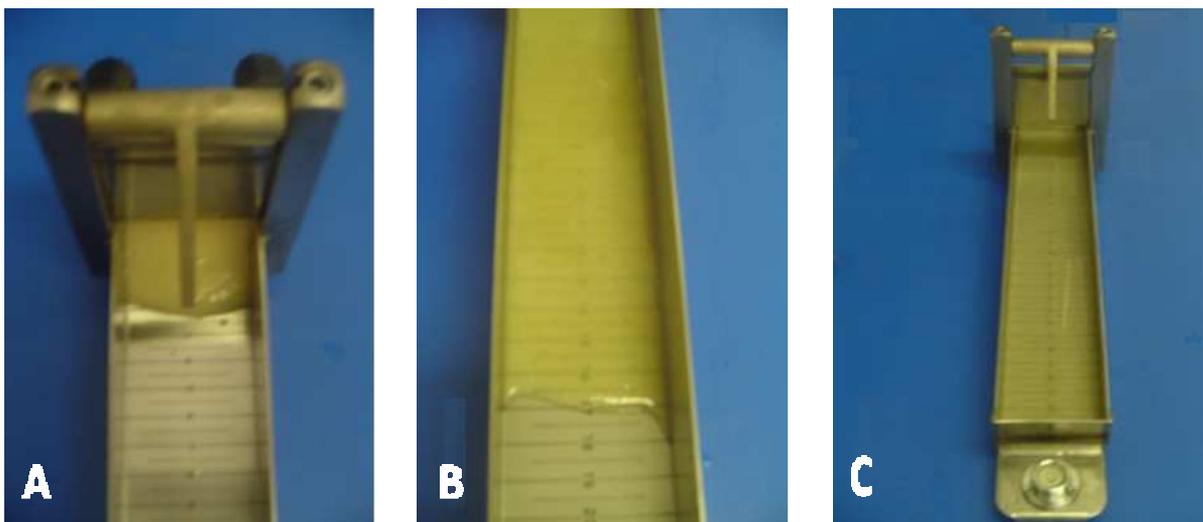


Figura 14- Amostra macerada sem diluição 1:0 (A); Amostra macerada diluída 1:0,75 (B); Amostra macerada diluída 1:2 (C).

Observa-se na Figura 14A que a polpa de noni, mesmo após a adição da preparação enzimática continua bastante consistente, pois o fluxo percorrido pela polpa foi extremamente pequeno, sem adição de água a enzima não reduz a consistência da polpa de noni. Na amostra diluída 1:0,75 pode-se observar o quanto a enzima é eficiente na liquefação da polpa. Já a diluição 1:2 a polpa atingiu o limite do consistômetro e a real leitura não pode ser feita, sendo esta diluição inadequada para esta análise com o consistômetro.

Na Figura 15 pôde-se comparar a amostra controle e a amostra com adição da preparação enzimática Viscozyme L na polpa diluída 1:0,75.

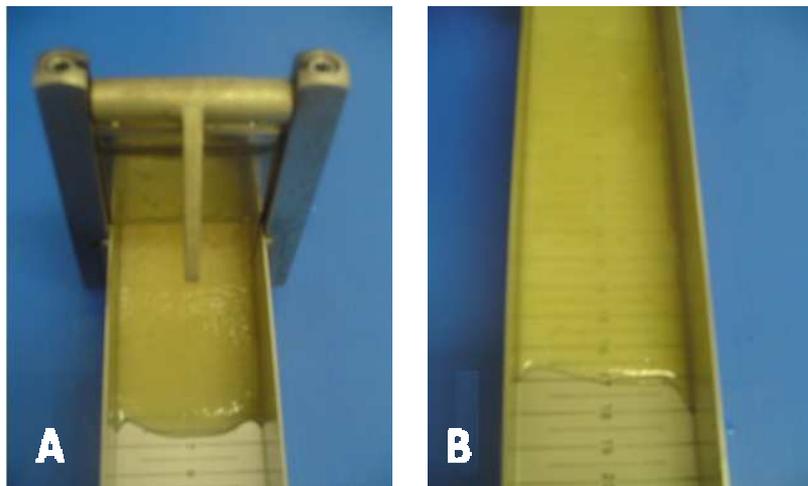


Figura 15- Amostra controle diluída 1:0,75 (A); Amostra macerada diluída 1:0,75 (B).

Apenas a adição de água não é suficiente para liquefazer a polpa de noni, a distância percorrida pela polpa na amostra controle foi de apenas 3,7 cm, enquanto que na polpa macerada essa distância atingiu 15 cm. Na figura 15B pode-se observar a redução da consistência da polpa de noni e da quantidade de macromoléculas, devido a preparação enzimática agir na polpa realizando a hidrólise da parede celular, proporcionando o aumento da fração solúvel e a liquefação da polpa.

Moura (2009) relatou que não é necessária a adição de água à polpa de cajá para que se tenha uma redução da viscosidade, pois somente o tratamento com enzima na polpa integral verifica-se esse efeito. Ao contrário do que foi observado por Aquino (2008) na polpa de bacuri, onde somente a adição de enzima não obteve um bom resultado na redução da consistência, necessitando utilizar a razão polpa:água de 1:2.

A Tabela 8 apresenta os valores de açúcares redutores e teor de polpa das amostras maceradas e seus controles em diferentes diluições de polpa:água. As amostras desta etapa apresentaram, como na etapa anterior, uma propensão a aumentar significativamente a concentração dos açúcares redutores e, de forma inversa, a diminuir o teor de polpa das

amostras maceradas em relação aos seus controles, devido à ação das enzimas hidrolíticas. À medida que se adiciona água, menor o teor de polpa e menor a quantidade de açúcares redutores, então busca-se a menor diluição em que a preparação enzimática seja eficiente para reduzir o teor de polpa e aumentar a concentração de açúcares redutores.

Tabela 8- Valores de açúcares redutores totais (ART) e teor de polpa das amostras de polpa de noni maceradas com Viscozyme L em diferentes razões polpa:água¹.

Amostras	ART (mg/g)				
	(1:0)	(1:0,5)	(1:0,75)	(1:1)	(1:1,5)
Controle geral ²	52,40±0,41e	37,30±0,79c	29,50±0,11e	25,68±0,33d	20,15±0,33c
Controle 0,5h ³	60,16±0,33c	43,60±0,15b	27,68±0,14f	25,21±0,25d	17,76±0,22d,e
Controle 1h ⁴	56,39±0,10d	43,41±0,81b,c	30,76±0,21d	30,54±0,59c	18,46±0,31d
Controle 1,5h ⁵	56,72±0,65d	43,38±0,45b,c	30,73±0,21d	25,12±0,26d	18,85±0,24d
Controle 2h ⁶	60,95±0,53c	42,40±1,02b,c	28,77±0,18e	29,80±0,40c	17,10±0,43e
Macerada 0,5h ⁷	62,20±0,06c	45,20±1,58a,b	32,19±0,12c	31,19±0,04c	24,50±0,20a,b
Macerada 1h ⁸	68,19±0,61a	44,25±2,78b	32,12±0,29c	32,95±0,15b	23,39±0,28b
Macerada 1,5h ⁹	65,07±0,01b	50,90±2,14a	33,87±0,35b	30,75±0,44c	23,57±0,34b
Macerada 2h ¹⁰	69,58±1,50a	46,95±2,16a,b	36,28±0,19a	36,37±0,45a	25,20±0,41a

Amostras	Teor de polpa (%)				
	(1:0)	(1:0,5)	(1:0,75)	(1:1)	(1:1,5)
Controle geral ²	42,09±0,75c	26,73±0,25a,b,c	24,37±0,06a	25,65±0,54a	19,17±0,01a
Controle 0,5h ³	44,41±0,39b,c	28,74±3,30a,b	22,33±3,08a	23,31±0,00b	17,87±0,26a
Controle 1h ⁴	44,69±0,17b	28,43±1,57a,b	26,33±4,15a	26,90±0,40a	18,50±0,19a
Controle 1,5h ⁵	43,90±0,85b,c	29,98±1,27a	24,05±0,22a	23,04±0,13b	18,98±0,09a
Controle 2h ⁶	48,41±0,29a	28,27±0,52a,b	22,42±0,01a	24,25±0,07b	17,28±0,02a
Macerada 0,5h ⁷	25,85±1,26d	15,64±0,28c	12,93±1,22b	14,89±0,49c,d	11,72±0,32b
Macerada 1h ⁸	23,99±0,59d	23,86±0,00a,b,c	14,34±0,19b	13,91±0,52d	10,79±0,39b
Macerada 1,5h ⁹	23,62±0,04d	18,12±0,51b,c	14,11±0,02b	14,55±0,29c,d	11,63±1,41b
Macerada 2h ¹⁰	24,66±0,25d	17,64±0,09b,c	14,91±0,43b	15,68±0,11c	12,57±0,43b

¹ Valores médios obtidos a partir de duplicatas de amostras. ² Polpa de noni sem adição de preparação enzimática, sem incubação. ³ Polpa de noni sem adição de preparação enzimática, 0,5h de incubação. ⁴ Polpa de noni sem adição de preparação enzimática, 1h de incubação. ⁵ Polpa de noni sem adição de preparação enzimática, 1,5h de incubação. ⁶ Polpa de noni sem adição de preparação enzimática, 2h de incubação. ⁷ Polpa de noni com adição de preparação enzimática, 0,5h de incubação. ⁸ Polpa de noni com adição de preparação enzimática, 1h de incubação. ⁹ Polpa de noni com adição de preparação enzimática, 1,5h de incubação. ¹⁰ Polpa de noni com adição de preparação enzimática, 2h de incubação.*Médias seguidas da mesma letra nas colunas não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

As amostras maceradas da polpa diluída 1:0,75 apresenta valores de açúcares redutores bem próximos das maceradas diluída 1:1. Da mesma forma acontece com o teor de

polpa, sendo que a redução do teor de polpa ao final da maceração foi de 38% nas duas condições. Como a quantidade de água adicionada é um fator relevante na escala industrial a diluição 1:0,75 é mais adequada por ter menor quantidade de água.

4.1.3.3 Influência da concentração de enzima

Nesta etapa foram comparadas diferentes concentrações de Viscozyme L à polpa de noni. Observando a Figura 16 podemos afirmar que as amostras maceradas com Viscozyme L em todas as concentrações estudadas apresentaram redução da consistência, quando comparadas com seus respectivos controles, e quanto maior a concentração de enzima maior a distância percorrida pela polpa.

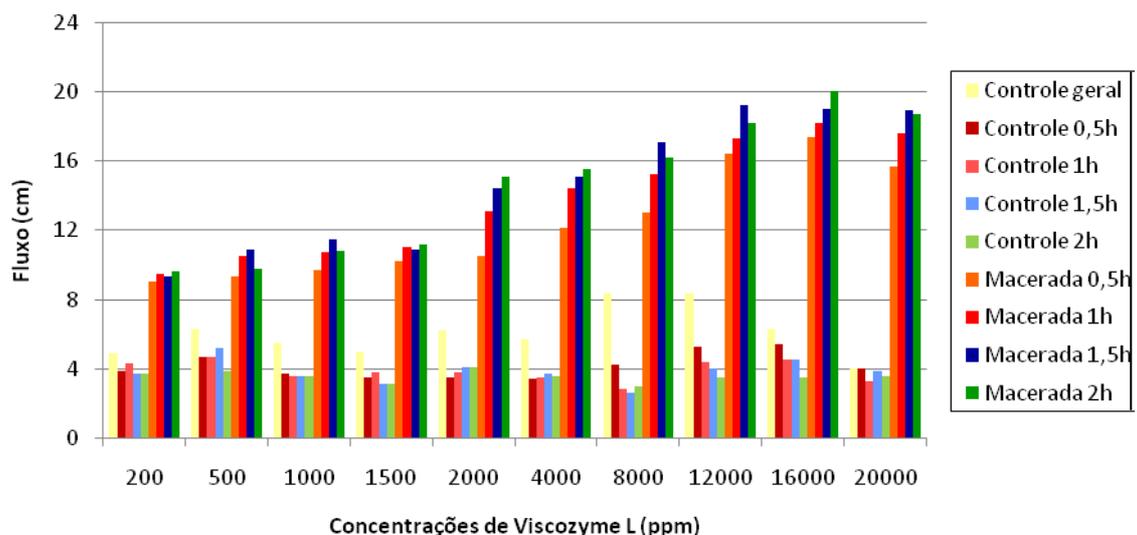


Figura 16- Consistência da polpa de noni diluída (1:0,75) macerada com diferentes concentrações de Viscozyme L a 30°C por até 2h. Amostras: controle geral (polpa sem adição de preparação enzimática, sem incubação); controle 0,5h (polpa sem adição de preparação enzimática, 0,5h de incubação); controle 1h (polpa sem adição de preparação enzimática, 1h de incubação); controle 1,5h (polpa sem adição de preparação enzimática, 1,5h de incubação); controle 2h (polpa sem adição de preparação enzimática, 2h de incubação); macerada 0,5h (polpa com adição de preparação enzimática, 0,5h de incubação); macerada 1h (polpa com adição de preparação enzimática, 1h de incubação); macerada 1,5h (polpa com adição de preparação enzimática, 1,5h de incubação) e macerada 2h (polpa com adição de preparação enzimática, 2h de incubação).

A inclusão de uma etapa de tratamento enzimático em um processamento industrial de frutas pode melhorar a qualidade do processo, aperfeiçoando a linha de produção e, até mesmo, eliminando algumas etapas. Contudo, o custo da preparação enzimática e o

tempo de incubação precisam ser bastante estudados para não inviabilizarem o processo (AQUINO, 2008).

A Tabela 9 fornece os valores obtidos da subtração da distância percorrida pelas amostras com seus respectivos controles, podemos observar que a concentração de Viscozyme L pode ser reduzida de 2000 ppm no tempo de 0,5h para 4000 ppm no tempo de 1,5 h, sem afetar sua eficiência.

Tabela 9- Incremento na distância percorrida (em cm) pelas amostras de polpa de noni maceradas com Viscozyme L¹.

Tempo de incubação (h)	Concentração de Viscozyme L (ppm)									
	200	500	1000	1500	2000	4000	8000	12000	16000	20000
0,5	5,1	4,6	6,0	6,7	7,0	8,7	8,8	11,1	12,0	11,7
1,0	5,2	5,8	7,1	7,2	9,3	10,9	12,4	12,9	13,7	14,3
1,5	5,6	5,7	7,9	7,8	10,3	11,4	15,1	15,2	14,5	15,0
2,0	5,9	5,9	7,2	8,1	11,0	11,9	13,2	14,7	16,5	15,1

¹Valores obtidos a partir da subtração das amostras maceradas com seus respectivos controles.

É necessário o uso de baixa concentração de enzima para que a maceração possa ser considerada viável, devido o seu alto valor no mercado. Selecionou-se a concentração de 4000 ppm de Viscozyme L no tempo de 1,5 h de incubação como a menor concentração e o menor tempo em que realizou uma eficiente redução na consistência da polpa de noni.

Moura (2009) selecionou a concentração de 2000 ppm de Viscozyme L e 1 h de maceração, como a menor concentração possível que apresentou melhor redução na consistência da polpa de cajá.

Aquino (2008) selecionou na concentração de 800 ppm de Viscozyme L e 40 min de incubação, como a condição que teve melhor eficiência na redução da consistência da polpa de bacuri diluída (1:2) polpa:água.

Bastos *et al.* (2002) concluíram que 300 ppm de Citrozym L adicionada a polpa de cupuaçu promove um aumento na extração da polpa, relatando um aumento no rendimento de 16%.

Abdullah *et al.* (2007) recomendaram 0,10% de Pectinex Ultra SP-L por 20 minutos para uma adequada clarificação de suco de carambola, alcançando uma significativa redução da viscosidade.

Na Tabela 10 verifica-se que, em relação aos açúcares redutores, a maioria das amostras com concentrações de 200 a 1500 ppm de Viscozyme L não diferem

significativamente das amostras controle. Isto pode ter ocorrido devido ao fato de que pequenas quantidades de Viscozyme L não efetuam uma maceração adequada. A partir de 200 ppm de Viscozyme L as amostras maceradas diferiram significativamente das amostras controle ($p \leq 0,05$).

Tabela 10- Valores de açúcares redutores totais (ART) das amostras de polpa de noni maceradas com diferentes concentrações de Viscozyme L ¹.

Amostras	ART (mg/g)				
	200ppm	500ppm	1000ppm	1500ppm	2000ppm
Controle geral ²	33,41±0,25c,d	31,59±0,55a	29,84±0,44d	27,43±0,01a	26,65±1,59b,c
Controle 0,5h ³	33,82±0,71c,d	30,10±0,56a	29,75±0,02d	27,98±1,86a	25,59±0,45c,d
Controle 1h ⁴	34,23±0,51b,c	32,27±1,92a	30,36±0,32d	28,09±3,65a	23,62±0,48d
Controle 1,5h ⁵	34,07±0,18b,c	30,72±0,88a	30,44±0,57c,d	28,14±3,30a	24,55±0,46c,d
Controle 2h ⁶	32,08±0,56d	31,03±0,07a	31,99±0,57c	28,24±0,48a	25,39±0,56c,d
Macerada 0,5h ⁷	35,68±0,33a,b	31,52±2,05a	35,43±0,53a	29,25±3,10a	29,92±0,22a
Macerada 1h ⁸	34,99±0,20a,b,c	32,08±1,41a	35,34±0,54a,b	28,89±2,04a	28,97±0,79a,b
Macerada 1,5h ⁹	33,79±0,16c,d	32,94±0,10a	33,72±0,03b	31,17±1,89a	30,27±0,09a
Macerada 2h ¹⁰	36,65±0,74a	33,47±0,03a	35,43±0,09a	33,67±0,91a	30,87±0,75a
Amostras	4000ppm	8000ppm	12000ppm	16000ppm	20000ppm
Controle geral ²	29,83±0,10c,d	24,73±0,02c,d	24,41±0,08c	26,88±0,57b	26,55±0,03d
Controle 0,5h ³	29,97±2,84b,c,d	23,78±0,36c,d	24,54±1,24c	26,27±0,35b	27,53±0,16d
Controle 1h ⁴	28,64±0,41d	22,69±0,63d	24,23±1,04c	25,24±0,36b	27,14±1,67d
Controle 1,5h ⁵	27,04±0,44d	24,12±0,72c,d	24,53±0,49c	26,17±0,30b	29,26±0,37d
Controle 2h ⁶	29,42±0,33c,d	25,69±0,90c	27,97±0,68c	26,40±0,32b	28,83±1,04d
Macerada 0,5h ⁷	34,14±1,20a,b	30,76±1,73a,b	33,46±0,07b	37,60±0,46a	46,42±1,15a
Macerada 1h ⁸	33,02±0,52a,b,c	29,80±0,00b	32,84±0,07b	37,50±0,58a	38,69±0,67c
Macerada 1,5h ⁹	35,77±0,08a	32,98±0,09a	35,61±0,55a,b	38,01±0,36a	42,18±0,70b
Macerada 2h ¹⁰	35,94±0,52a	32,98±0,12a	38,66±2,09a	38,69±0,98a	39,85±0,06b,c

¹ Valores médios obtidos a partir de duplicatas de amostras. ² Polpa de noni sem adição de preparação enzimática, sem incubação. ³ Polpa de noni sem adição de preparação enzimática, 0,5h de incubação. ⁴ Polpa de noni sem adição de preparação enzimática, 1h de incubação. ⁵ Polpa de noni sem adição de preparação enzimática, 1,5h de incubação. ⁶ Polpa de noni sem adição de preparação enzimática, 2h de incubação. ⁷ Polpa de noni com adição de preparação enzimática, 0,5h de incubação. ⁸ Polpa de noni com adição de preparação enzimática, 1h de incubação. ⁹ Polpa de noni com adição de preparação enzimática, 1,5h de incubação. ¹⁰ Polpa de noni com adição de preparação enzimática, 2h de incubação. *Médias seguidas da mesma letra nas colunas não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

As amostras com preparações enzimáticas adicionadas obtiveram redução significativa no teor de polpa em relação aos seus controles (Tabela 11). A redução do teor de polpa nas concentrações 200, 500, 1000, 1500, 2000, 4000, 8000, 12000, 16000 e 20000 ppm

foram respectivamente de 20, 23, 32, 33, 36, 39, 33, 33, 43 e 39%. A concentração de 4000 ppm e 20000 ppm obtiveram a mesma redução no teor de polpa, 39%, assim a concentração de 4000 ppm é a mais adequada por ter menor quantidade de enzima e ser mais viável em uma escala industrial.

Tabela 11- Valores de Teor de polpa (%) das amostras de polpa de noni maceradas com viscozyme L em diferentes concentrações ¹.

Amostras	Teor de polpa (%)				
	200ppm	500ppm	1000ppm	1500ppm	2000ppm
Controle geral ²	22,10±0,31a	22,33±0,06a	25,06±0,38a,b	25,09±0,18a	25,04±1,77a,b
Controle 0,5h ³	23,08±0,59a	23,36±0,27a	25,32±0,22a,b	24,86±0,23a	27,52±0,51a
Controle 1h ⁴	23,29±0,10a	22,93±0,67a	23,83±0,02b	24,10±0,16a	23,52±0,41b
Controle 1,5h ⁵	23,11±5,59a	21,92±0,17a	26,11±0,06a	23,78±0,14a	24,77±0,31a,b
Controle 2h ⁶	22,62±0,04a	23,49±0,24a	26,56±0,51a	24,46±0,49a	25,81±0,14a,b
Macerada 0,5h ⁷	17,67±0,20a	16,88±0,31b	19,93±0,22c	17,35±0,23b	16,74±0,13c
Macerada 1h ⁸	17,14±1,23a	17,31±0,64b	20,88±0,75c	16,34±0,11b	16,45±1,45c
Macerada 1,5h ⁹	17,44±4,37a	16,83±0,94b	20,81±0,93c	16,34±0,77b	18,47±0,41c
Macerada 2h ¹⁰	17,66±1,07a	17,08±1,26b	16,88±0,09d	16,71±0,30b	15,83±0,24c

Amostras	4000ppm	8000ppm	12000ppm	16000ppm	20000ppm
Controle Geral ²	24,36±0,05a,b	24,35±0,46a	22,21±0,29b	24,18±0,03a	23,34±0,19a
Controle 0,5h ³	24,81±0,11a	25,26±0,61a	22,92±0,77b	22,66±0,08a	23,63±0,88a
Controle 1h ⁴	23,92±0,19a,b	25,98±0,36a	23,73±0,17a,b	24,36±0,05a	24,47±0,71a
Controle 1,5h ⁵	22,85±0,54b	25,72±0,14a	23,67±0,42a,b	23,30±0,64a	23,39±0,24a
Controle 2h ⁶	25,03±0,01a	25,64±0,42a	25,25±0,74a	23,92±0,12a	24,26±0,04a
Macerada 0,5h ⁷	16,63±0,13c	15,87±0,03b	14,99±0,46c	13,70±0,12b	13,05±0,45b
Macerada 1h ⁸	16,08±1,23c,d	15,47±0,23b	13,88±0,13c	15,05±0,31b	13,10±0,06b
Macerada 1,5h ⁹	17,03±0,27c	15,63±0,84b	14,11±1,12c	14,45±2,03b	13,68±0,05b
Macerada 2h ¹⁰	14,75±0,18d	16,28±0,57b	14,85±0,39c	13,59±0,17b	14,12±0,52b

¹ Valores médios obtidos a partir de duplicatas de amostras. ² Polpa de noni sem adição de preparação enzimática, sem incubação. ³ Polpa de noni sem adição de preparação enzimática, 0,5h de incubação. ⁴ Polpa de noni sem adição de preparação enzimática, 1h de incubação. ⁵ Polpa de noni sem adição de preparação enzimática, 1,5h de incubação. ⁶ Polpa de noni sem adição de preparação enzimática, 2h de incubação. ⁷ Polpa de noni com adição de preparação enzimática, 0,5h de incubação. ⁸ Polpa de noni com adição de preparação enzimática, 1h de incubação. ⁹ Polpa de noni com adição de preparação enzimática, 1,5h de incubação. ¹⁰ Polpa de noni com adição de preparação enzimática, 2h de incubação. *Médias seguidas da mesma letra nas colunas não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

Clotteau *et al.* (2002) realizaram um estudo em suco de laranja e observaram que o uso de PG e celulasas reduziu 77% do teor de polpa e 88% da viscosidade com a adição de 500 ppm de PG e 200 ppm de celulasas, durante 15 minutos.

Santin (2004) mostrou que para polpa de pêssego, 240 ppm de Pectinex AFP-L3 por 60 minutos efetua uma adequada hidrólise enzimática, reduzindo 48% do teor de polpa e 68% da viscosidade.

4.2 Experimento 2

4.2.1 Caracterização da polpa de noni *in natura* - lote 2

Na Tabela 12 apresentam-se os valores médios obtidos com a caracterização química da polpa de noni *in natura*.

Tabela 12. Caracterização da polpa de noni *in natura* – lote 2

CARACTERÍSTICAS	VALORES ¹
Composição centesimal	
• Umidade (g.100g ⁻¹)	91,9±0,06
• Extrato etéreo (g.100g ⁻¹)	0,08±0,02
• Proteína (g.100g ⁻¹)	1,06±0,07
• Cinzas (g.100g ⁻¹)	0,63±0,03
• Carboidrato total ² (g.100g ⁻¹)	6,32
Sólidos solúveis totais (°Brix)	9,2± 0,4
pH	4,25±0.01
Ratio ³	14,66±0,6
Acidez total titulável (g.100g ⁻¹)	0.62±0,01
Vitamina C (mg.100g ⁻¹)	122,54±1,35
Açúcares	
• Totais (g.100g ⁻¹)	5,45±0,3
• Redutores (g.100g ⁻¹)	5,32±0,10
Fenólicos totais (mg de ácido gálico.100g ⁻¹)	216,67±3,77
Antioxidante (µmol. TEAC g ⁻¹)	6,27±0,15
Atividade de água- AW	0,93±0,004
AIR ⁴ (g. 100g ⁻¹)	2,8±0,02
• Pectina* (g. 100g ⁻¹)	1,13±0,03
• Hemicelulose* (g. 100g ⁻¹)	0,25±0,03
• Celulose + Lignina* (g. 100g ⁻¹)	0,45±0,02

¹ Valores médios obtidos a partir da análise de 3 amostras em base úmida; ²Carboidratos totais = 100 – (Umidade + Extrato Etéreo + Proteína + Cinzas); ³Ratio é a relação entre sólidos solúveis totais e acidez total titulável = SST/ATT; ⁴AIR = Resíduos insolúveis em álcool; * Pectina, Hemicelulose ou celulose + lignina = (Peso do resíduo seco x Peso do AIR) / (0,8g / Peso da amostra) x100 (Segundo SCHIEBER *et al.*, 2005).

Os valores de umidade, cinzas, e carboidratos totais, AIR, pectina, hemicelulose e celulose+lignina desta polpa foram muito próximos dos valores relatados no experimento 1 (Tabela 4). Já em relação ao extrato etéreo e as proteínas, os valores encontrados foram um pouco diferentes. Sendo o extrato etéreo inferior e a proteína superior aos valores relatados no experimento 1. Estas discrepâncias ocorreram, provavelmente, devido o fato de que os frutos foram coletados em épocas diferentes, podendo afetar a sua composição.

Souza *et al.* (2000) afirmaram que as discrepâncias verificadas na composição do fruto de diferentes trabalhos podem ser oriundas de fatores, como: genética, ecologia, métodos de cultivo, maturação do fruto, condições de armazenagem, época de colheita do fruto, alterações pós-colheita resultantes da atividade fisiológica, metodologia de determinação das análises e outros.

O teor de sólidos solúveis totais é utilizado como uma medida indireta do teor de açúcares, não representa o teor exato dos açúcares porque outras substâncias também se encontram dissolvidas (CHITARRA; CHITARRA, 2005). O noni apresenta grande quantidade de vitamina C, compostos fenólicos e pectina (Tabela 12), por isso, o conteúdo de sólidos solúveis totais é bem maior que o de açúcares totais.

O valor de sólidos solúveis foi de 9,2 °Brix, estando próximo aos encontrados por Chunhieng (2003), Barros *et al.* (2008) e Silva *et al.* (2009) que foi de 8 °Brix, 8,4 °Brix e 10,33°Brix, respectivamente. Valor inferior foi encontrado por Chan-blanco *et al.* (2007), 7,3 °Brix.

O pH encontrado foi 4,25, muito próximo ao relatado por Chan-Blanco *et al.* (2007), Barros *et al.* (2008) e Chunhieng (2003) que obtiveram valores 4; 3,85 e 3,72 respectivamente.

A relação SST/ATT pelos dados de Barros *et al.* (2008) foi de 10,24, valor próximo ao encontrado na Tabela 12, 14,66. Silva *et al.* (2009) encontrou valores bem maiores com uma média de 25,83. Para o mercado consumidor de frutas frescas e/ou processadas, a relação SST/ATT elevada é desejável.

O conteúdo de vitamina C foi de 122,54 mg.100g⁻¹, próximo ao valor encontrado por Shovic e Whistler (2001) de 155 mg.100g⁻¹ e Barros *et al.* (2008) de 105,3 mg.100g⁻¹, enquanto Chan-Blanco *et al.* (2007) encontrou um valor bem maior, 316 mg.100g⁻¹. Silva *et al.* (2009) estudando frutos em três diferentes estádios de maturação encontrou valores entre 101 a 385 mg.100g⁻¹, sendo que os frutos maduros se apresentaram com valores menores de vitamina C. Pelos resultados encontrados, o fruto do noni é rico em vitamina C, um poderoso

antioxidante com potencial de oferecer proteção contra algumas doenças e contra os aspectos degenerativos do envelhecimento.

Os açúcares totais encontrados por Barros *et al.* (2008) foi 5,19 g.100g⁻¹, dado este bem próximo ao relatado neste estudo, 5,45 g.100g⁻¹.

Os compostos fenólicos têm participação no sabor, na coloração, na vida de prateleira e na ação do produto como alimento funcional, notadamente correlacionado com a capacidade antioxidante (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Barros *et al.* (2008) encontrou 160,84 mg.100g⁻¹ de fenólicos, valor este inferior a 216,67 mg.100g⁻¹ (Tabela 12).

A capacidade antioxidante do noni é relativamente alta com $8 \pm 0,4$ μmol . Trolox® g⁻¹ (CHAN-BLANCO *et al.*, 2007). Resultado inferior foi encontrado neste estudo, $6,27 \pm 0,15$ μmol . TEAC. g⁻¹.

4.2.2 Caracterização da atividade das preparações enzimáticas comerciais

A Tabela 13 apresenta os valores de atividade de enzima determinados para as preparações enzimáticas comerciais avaliadas.

Tabela 13- Caracterização das atividades das preparações enzimáticas comerciais¹.

Preparações Enzimáticas	PG ² (U.mL ⁻¹)	PL ³ (U.mL ⁻¹)	PME ⁴ (U.mL ⁻¹)	Amilases (U.mL ⁻¹)	Celulases (U.mL ⁻¹)	Xilanases (U.mL ⁻¹)
Pectinex Yield Match	369,08b	4,75a	62,40a	8,52b	4,44b	4,26c
Viscozyme L	764,53a	4,45a	51,20a	66,43a	24,63a	73,33b
Ultrazym AFP-L	705,21a	5,13a	15,20b	4,26b	21,30a	180,40a
Termamyl	0,00c	0,07b	2,00c	62,04a	32,87a	0,66c

¹Valores médios obtidos a partir da análise em duplicata. Médias seguidas da mesma letra nas colunas não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ao nível de 5%. ² PG = poligalacturonase; ³ pectinametilesterase; ⁴ pectinaliase. * ND = Não detectada.

Das preparações enzimáticas comerciais avaliadas, Viscozyme L e Ultrazym AFP-L apresentaram maior atividade PG e não mostraram diferença significativa ($p > 0,05$) entre elas. Pectinex Yield Match encontrou-se na segunda posição, diferenciando-se significativamente ($p \leq 0,05$) da Termamyl, que não apresentou atividade de PG (Tabela 13).

Todas as preparações enzimáticas analisadas apresentaram baixa atividade de PL, sendo que não foi encontrada diferença significativa entre Viscozyme L, Ultrazym AFP-L e

Pectinex Yield. Já a preparação enzimática Termamyl diferenciou-se significativamente das demais apresentando o menor valor de PL (Tabela 13).

Pectinex Yield Match e Viscozyme L se destacaram em relação à concentração de PME, não apresentando diferença significativa entre si. Ultrazym AFP-L mostrou-se diferente significativamente ($p \leq 0,05$) entre as demais, apresentando baixa concentração ($15,20 \text{ U.mL}^{-1}$) e Termamyl, também diferente significativamente ($p \leq 0,05$) de todas, apresentou uma concentração menor ainda de $2,00 \text{ U.mL}^{-1}$ (Tabela 13).

As preparações enzimáticas Viscozyme L e Termamyl se sobressaíram pela maior concentração de amilases e não se mostraram diferentes significativamente entre si, mas diferenciaram-se da Ultrazym AFP-L e Pectinex Yield Match, que apresentaram valores mais baixos e não se mostraram diferentes significativamente entre si (Tabela 13).

Em relação às celulases, a preparação enzimática Pectinex Yield Match foi a única que apresentou diferença significativa entre as demais, contendo a menor concentração ($4,44 \text{ U.mL}^{-1}$).

A preparação enzimática Ultrazym AFP-L foi a que apresentou maior atividade de xilanases, apresentando diferença significativa ($p \leq 0,05$) da Viscozyme L. Estas duas últimas preparações enzimáticas também mostraram-se diferentes de Pectinex Yield Match e Termamyl, as quais não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$) entre elas, apresentando baixas concentrações de xilanases (Tabela 13).

A preparação enzimática mais completa foi a Viscozyme L, por apresentar maior concentração de PG, PL, PME e amilases, e com uma alta quantidade de invertases. Já a Termamyl foi a que apresentou atividade enzimática mais baixa em relação as enzimas analisadas, mostrando ser um complexo enzimático apenas amilolítico e celulolítico.

4.2.3 Maceração enzimática

Os modelos estudados não foram significativos ao nível de 5% de probabilidade, sendo utilizados como indicadores de tendência.

Nas Tabelas 14, 15, 16 e 17 estão apresentados os resultados da regressão linear múltipla para as variáveis de tempo de incubação, temperatura de incubação e concentração de preparação enzimática e a interação das variáveis sobre o teor de polpa e os açúcares redutores totais (ART). Os gráficos de superfície de resposta gerados, mostrados nas figuras

17, 18, 19 e 20, reafirmam os resultados da influência das variáveis sobre o teor de polpa e de ART da maceração enzimática da polpa de noni.

A Tabela 14 mostra que, na maceração da polpa de noni com Pectinex Yield Match, em relação ao teor de polpa, nenhum efeito significativo de nenhuma das três variáveis foi encontrado. Já, em relação ao ART, observou-se que o aumento da temperatura de incubação promoveu um aumento significativo de ART dentro do intervalo testado. Não foi encontrado nenhum efeito significativo na interação das variáveis estudadas.

Tabela 14- Resultado da regressão linear múltipla para as variáveis e a interação das variáveis na maceração da polpa de noni com Pectinex Yield Match.

Parâmetros e interações	Teor de polpa (%)		ART ¹ (mg/g)	
	Efeitos estimados	<i>P</i> *	Efeitos estimados	<i>P</i> *
Tempo de incubação	0,19	Não significativo	1,29	Não significativo
Temperatura de incubação	0,17	Não significativo	4,89	Significativo
Concentração de preparação	-1,43	Não significativo	-0,71	Não significativo
Temperatura x tempo	-0,17	Não significativo	-1,97	Não significativo
Temperatura x concentração	0,99	Não significativo	1,86	Não significativo
Tempo x concentração	-0,71	Não significativo	-1,87	Não significativo

¹ ART = açúcares redutores totais. **P* = 0,05 indica significância ao nível de 95%.

As Figuras 17A e 17B apresentam o comportamento do teor de polpa e dos ART na maceração da polpa de noni com Pectinex Yield Match. Pode observar nitidamente, que as variáveis, na faixa estudada, não influenciaram na redução do teor de polpa e que a variável de temperatura de incubação influenciou no aumento dos ART proporcionando um efeito positivo.

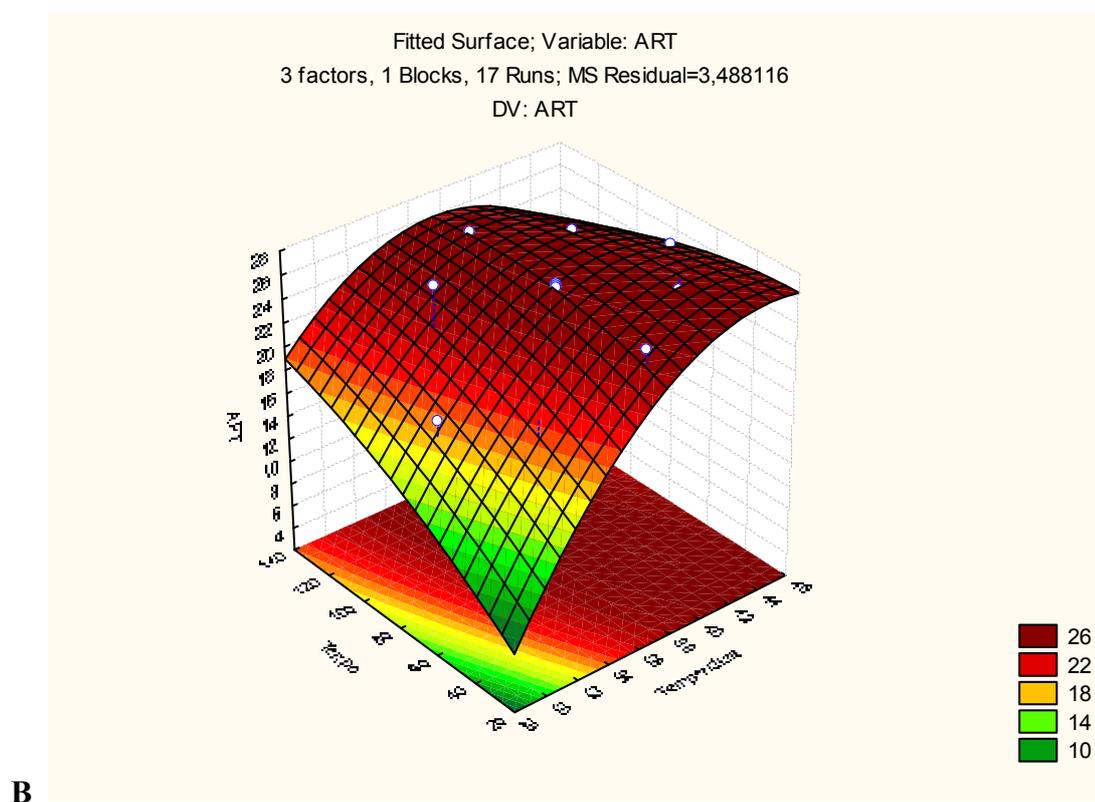
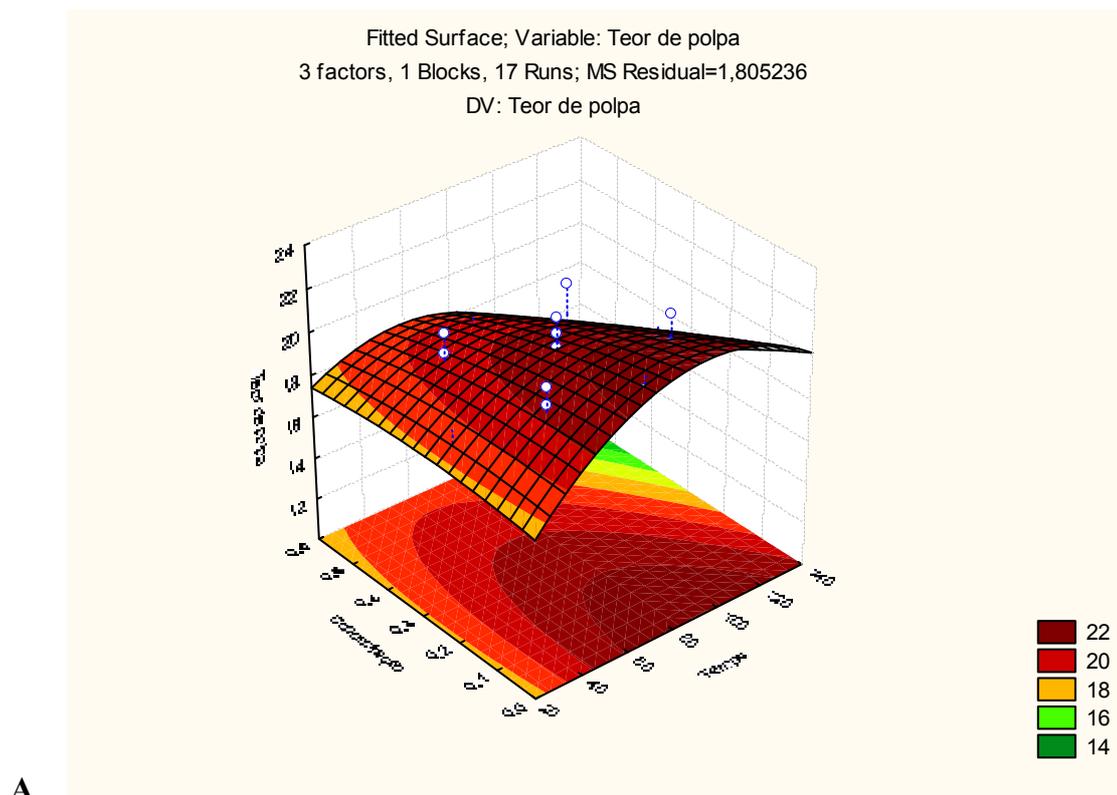


Figura 17- Efeito da maceração enzimática com a preparação Pectinex Yield Match sobre o teor de polpa (A) e os açúcares redutores totais (B) da polpa de noni.

Para a maceração da polpa de noni com Viscozyme L, a concentração teve um efeito negativo sobre o teor de polpa, mostrando um nível significativo, ou seja, o aumento da concentração ocasionou uma redução significativa de teor de polpa. Notou-se também que o aumento da temperatura gerou um aumento significativo de ART, dentro do intervalo testado. Em relação à interação das variáveis, não houve nenhum efeito significativo, nem em termos de teor de polpa nem de ART (Tabela 15).

Tabela 15- Resultado da regressão linear múltipla para as variáveis a interação das variáveis na maceração da polpa de noni com Viscozyme L.

Parâmetros e interações	Teor de polpa (%)		ART ¹ (mg/g)	
	Efeitos estimados	P*	Efeitos estimados	P*
Tempo de incubação	-1,38	Não significativo	1,57	Não significativo
Temperatura de incubação	0,40	Não significativo	4,91	Significativo
Concentração de preparação	-1,93	Significativo	-0,08	Não significativo
Tempo x temperatura	-0,08	Não significativo	-2,02	Não significativo
Tempo x concentração	-0,17	Não significativo	-2,03	Não significativo
Temperatura x concentração	0,04	Não significativo	2,07	Não significativo

¹ART = açúcares redutores totais. *P = 0,05 indica significância ao nível de 95%.

As Figuras 18A e 18B apresentam a resposta do teor de polpa e dos ART na maceração da polpa de noni com Viscozyme L. Verifica-se claramente que a variável concentração, na faixa estudada, influenciou na redução do teor de polpa e a temperatura também influenciou o aumento dos ART, gerando um efeito negativo e positivo, respectivamente.

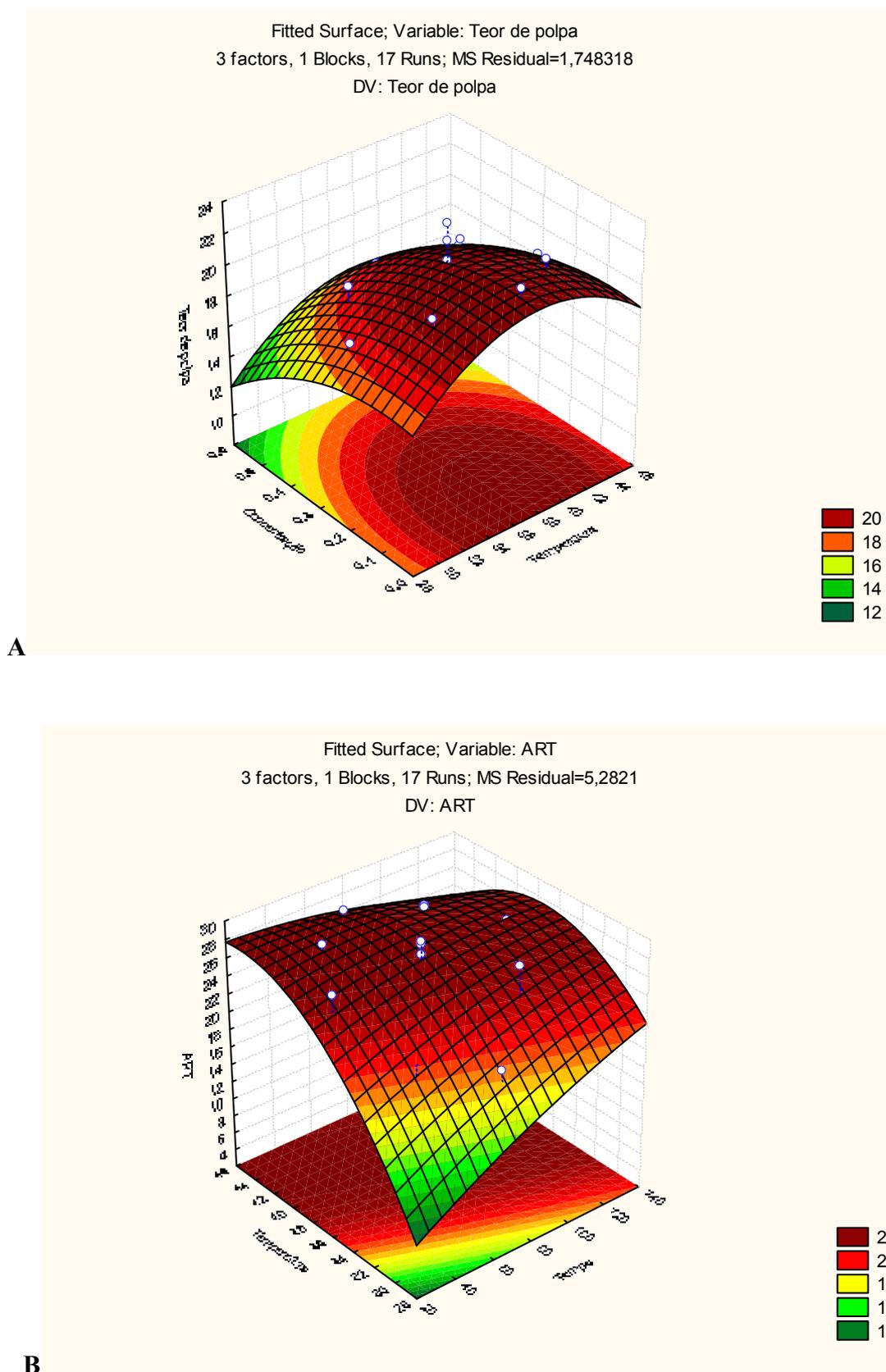


Figura 18- Efeito da maceração enzimática com a preparação Viscozyme L sobre o teor de polpa (A) e os açúcares redutores totais (B) da polpa de noni.

Da mesma forma, na maceração da polpa de noni com Ultrazym AFP-L, observou-se que o aumento da concentração promoveu uma redução significativa de teor de polpa e o aumento da temperatura promoveu um aumento significativo de ART, dentro da faixa estudada. Já em relação à interação das variáveis, os resultados sobre teor de polpa e ART não mostraram-se significativos (Tabela 16).

Tabela 16- Resultado da regressão linear múltipla para as variáveis e a interação das variáveis na maceração da polpa de noni com Ultrazym AFP-L.

Parâmetros e interações	Teor de polpa (%)		ART ¹ (mg/g)	
	Efeitos estimados	P*	Efeitos estimados	P*
Tempo de incubação	-1,03	Não significativo	1,42	Não significativo
Temperatura de incubação	0,01	Não significativo	4,91	Significativo
Concentração de preparação	-1,73	Significativo	-0,53	Não significativo
Tempo x temperatura	-1,48	Não significativo	-1,10	Não significativo
Tempo x concentração	-0,69	Não significativo	-1,56	Não significativo
Temperatura x concentração	-0,48	Não significativo	1,34	Não significativo

¹ART = açúcares redutores totais. *P = 0,05 indica significância ao nível de 95%.

As Figuras 19A e 19B mostram os resultados do teor de polpa e dos ART da maceração da polpa de noni com Ultrazym AFP-L. Observa-se que, na faixa estudada, a concentração influenciou na redução do teor de polpa resultando em um efeito negativo e a temperatura influenciou no aumento dos ART resultando em efeito positivo.

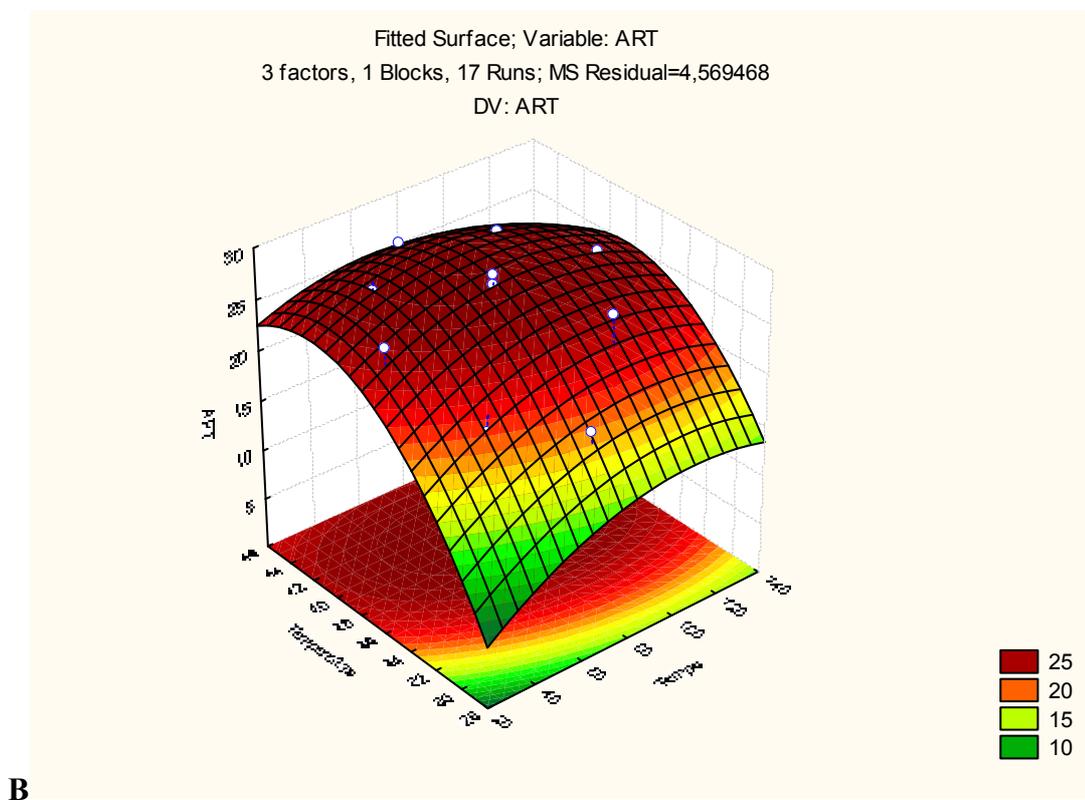
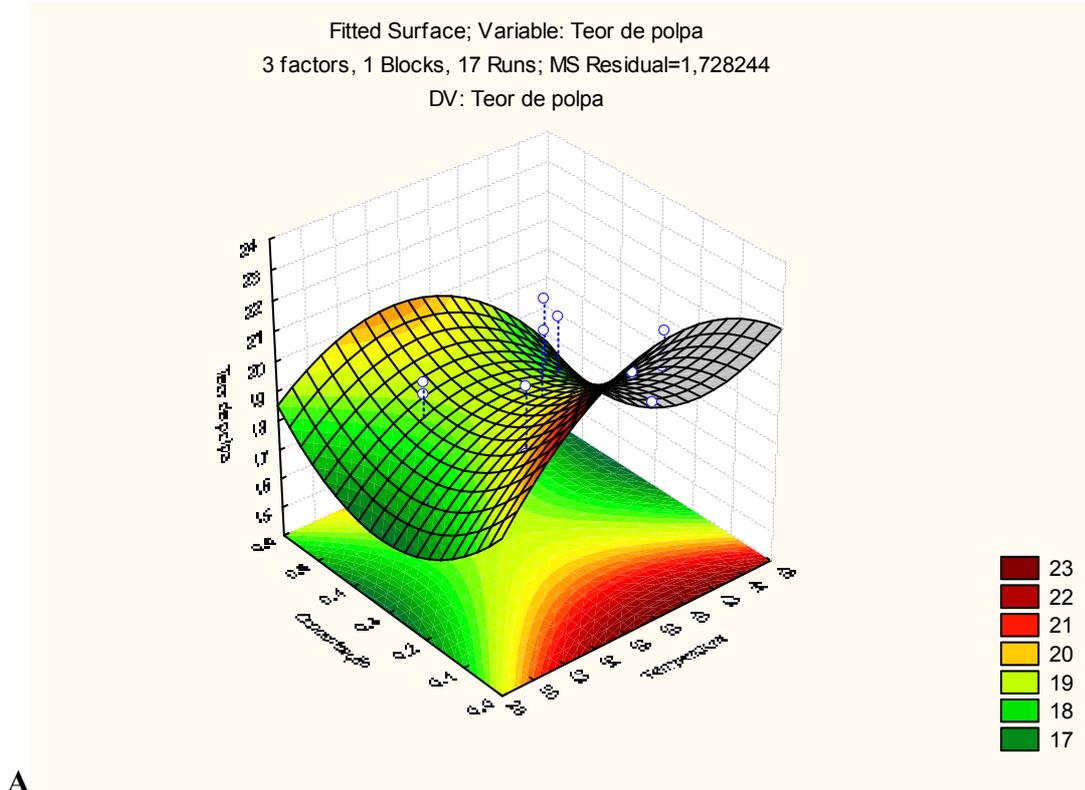


Figura 19- Efeito da maceração enzimática com a preparação Ultrazym AFP-L sobre o teor de polpa (A) e os açúcares redutores totais (B) da polpa de noni.

Na maceração com Termamyl, não foi observado nenhum efeito significativo de nenhuma das três variáveis, em relação ao teor de polpa, mas o aumento da temperatura de incubação ocasionou um efeito significativo de ART, dentro do intervalo testado. Não foi verificado nenhum efeito significativo na interação das variáveis estudadas (Tabela 17).

Tabela 17- Resultado da regressão linear múltipla para os parâmetros e a interação dos parâmetros na maceração da polpa de noni com Termamyl.

Parâmetros e interações	Teor de polpa (%)		ART (mg/g)	
	Efeitos estimados	<i>P</i> *	Efeitos estimados	<i>P</i> *
Tempo de incubação	0,45	Não significativo	0,85	Não significativo
Temperatura de incubação	2,62	Não significativo	4,81	Significativo
Concentração de preparação	0,25	Não significativo	-0,83	Não significativo
Tempo x temperatura	-1,50	Não significativo	-1,55	Não significativo
Tempo x concentração	-1,75	Não significativo	-1,31	Não significativo
Temperatura x concentração	-0,39	Não significativo	1,48	Não significativo

¹ ART = açúcares redutores totais. **P* = 0,05 indica significância ao nível de 95%.

As Figuras 120A e 20B mostram os resultados do teor de polpa e dos ART da maceração da polpa de noni com Termamyl. Através das Figuras 18 (A e B) nota-se que as variáveis, na faixa estudada, não influenciaram na redução do teor de polpa e que a temperatura influenciou no aumento dos ART com efeito positivo.

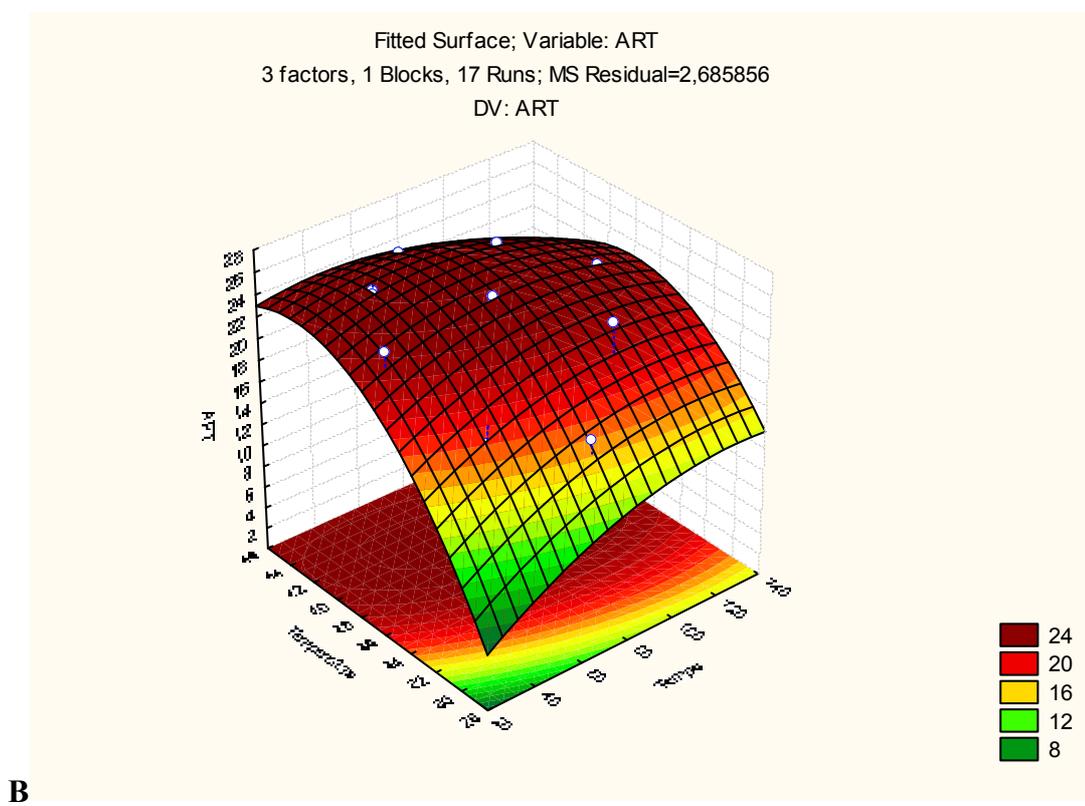
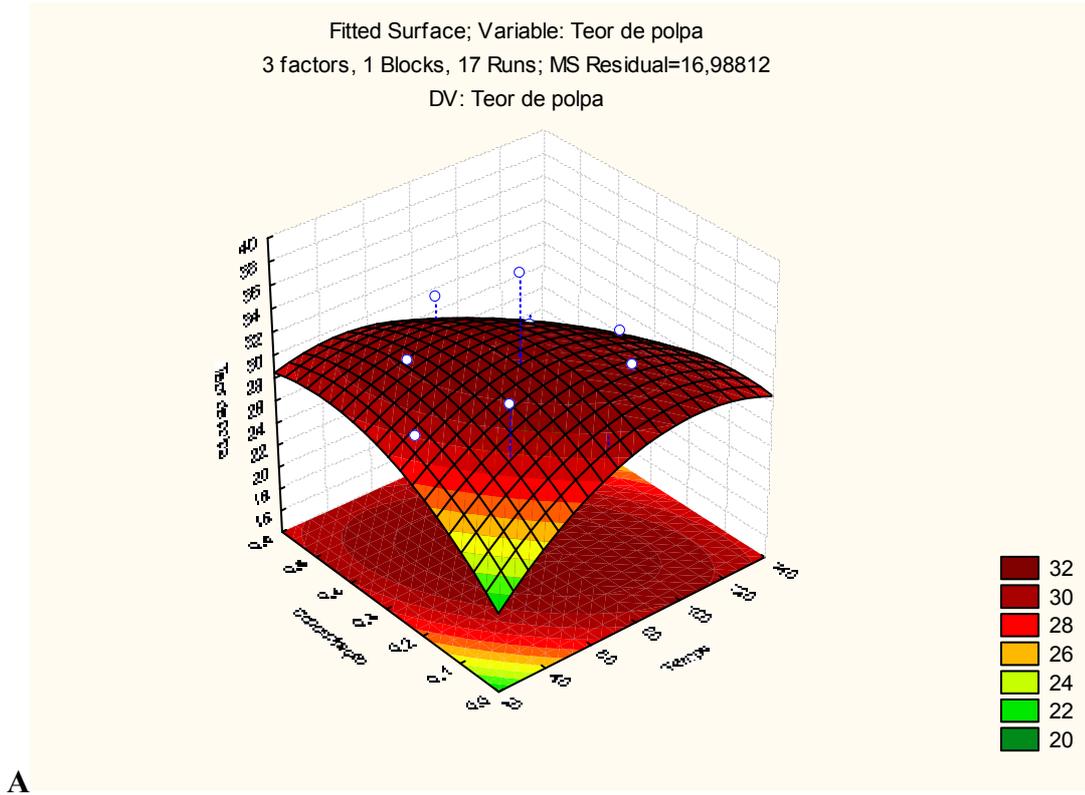


Figura 20- Efeito da maceração enzimática com a preparação Termamyl sobre o teor de polpa (A) os açúcares redutores totais (B) da polpa de noni.

Os resultados mais satisfatórios para teor de polpa e ART foram alcançados a partir das macerações com Ultrazym AFP-L e Viscozyme L, pois apresentaram uma redução do teor de polpa de 30,85 e 29,97%, respectivamente, e um aumento de 2,24 e 2,66 mg/g de ART, sendo diferente significativamente do experimento controle sem adição de preparação enzimática. Sabendo que, para estas duas preparações enzimáticas, dentro da faixa estudada, o aumento da concentração de preparação enzimática reduz significativamente o teor de polpa, o aumento da temperatura de incubação aumenta significativamente os ART e o tempo não exerce nenhuma influência, temos que, quanto maior for a concentração de preparação enzimática e a temperatura de incubação, melhor será a maceração da polpa de noni.

As preparações enzimáticas Ultrazym AFP-L e Viscozyme L foram as mais eficientes possivelmente devido à presença de uma maior atividade de celulasas, pectinases e hemicelulasas, em relação às demais.

A ação da enzima celulase, em especial da endoglucanase resulta em um rápido aumento dos grupos redutores e redução do teor de polpa. Apesar de a enzima Termamyl apresentar a maior atividade de celulasas, esta não se mostrou eficiente provavelmente por apresentar apenas atividade amilolítica e celulolítica. Assim, torna-se imprescindível o efeito sinérgico das enzimas de maceração, celulasas, hemicelulasas e pectinases, para que ocorra a degradação da parede celular e conseqüentemente a redução do teor de polpa e ausência de partículas insolúveis, ou seja, perfeita liquefação da polpa.

Na maceração da uva para extração de suco, uma incubação entre 60 a 65°C promoveu a plasmólise da membrana e rupturas na parede celular do fruto, facilitando a liberação do líquido e de antocianinas responsáveis pela cor do suco (GOMES *et al.*, 2007).

Um tratamento com o uso de PG e celulasas para hidrolisar cascas de laranja com o objetivo de extrair agentes naturais capazes de melhorar a estabilidade da turbidez em bebidas, foi realizado por Barooso, Fortuny e Belloso (2004). A adição de celulasas e PG durante 80 minutos a 48°C forneceu uma quantidade de agentes naturais capazes de estabilizar a turbidez em bebidas de frutas e reduzi-la em 9,1%.

Oliveira (2006) relatou que o processo de fermentação alcoólica do mosto de maçã obtido pela liquefação enzimática por meio da adição de Ultrazym AFP-L por 75 minutos a 50°C apresentou aumento de 18% no rendimento, quando comparado ao mosto obtido por prensagem, que recebeu Pectinex 100L por 2 h a 28°C.

César (2007) concluiu que a concentração de 0,1% (v/v) de Citrozym-Ultra L a 45°C durante 15 minutos foi suficiente para a obtenção do suco clarificado de açaí.

5 CONCLUSÕES

A polpa de noni é uma fonte natural de nutrientes, com destaque na concentração de vitamina C e compostos fenólicos.

Todas as preparações enzimáticas comerciais avaliadas apresentaram atividades pectinolíticas, celulolíticas, hemicelulolíticas em seus perfis de enzimas, com exceção da Termamyl que praticamente não apresentou atividade pectinolítica e hemicelulolítica.

No experimento 1, a preparação enzimática comercial Viscozyme L mostrou-se mais eficiente na maceração enzimática, sendo a aplicação de 4000 ppm de Viscozyme L na polpa de noni diluída na razão polpa:água 1:0,75, com 1,5 h de incubação, satisfatória, uma vez que ocorreu elevada redução da consistência, teor de polpa e aumento dos açúcares redutores totais destas amostras.

No experimento 2, as preparações enzimáticas comerciais Viscozyme L e Ultrazym AFP-L foram mais eficientes na maceração enzimática da polpa de noni, mostrando que a concentração de preparação enzimática e a temperatura de incubação são fatores relevantes na redução do teor de polpa e no aumento dos açúcares redutores, respectivamente. O tempo de incubação não exerce nenhuma influencia sobre a redução do teor de polpa e o aumento de ART, dentro do intervalo testado, que foi de 30 a 120 min.

REFERÊNCIAS

ABDULLAH, A. G. L.; SULAIMAN, N. M.; AROUA, M. K.; NOOR, M. M. Response surface optimization of coditios for clarification of carambola fruit juice using a comercial enzyme. **J. Food Eng.**, New York, v. 81, n. 1, p. 67-71, 2007.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Informe técnico** nº 25, de 29 de maio de 2007. Esclarecimentos sobre a comercialização do suco de fruta noni (*Morinda citrifolia*). Disponível em:http://www.anvisa.gov.br/alimentos/informes/25_290507. Acesso em: 13/03/2008.

ALBERSHEIM, P.; DARVILL, A. G.; O'NEILL, M. A.; SCHOLS, H. A.; VORAGEN, A. G. J. An hypothesis: the same six polysaccharides are components of the primary cell walls of all higher plants. In: VISSER, J.; VORAGEN, A. G. J. (Eds.). **Progress in Biotechnology. Pectins and Pectinases**. Amsterdam: Elsevier, v. 14, p. 47-55, 1996.

ALMEIDA, C.; BRANYIK, T.; MORADAS-FERREIRA, P. Use of two different carriers in a packed endopolygalacturonase production by a bed reactor for yeast strain. **Process Biochemistry**. v. 40, n. 5, p. 1937-1942, 2005.

ALMEIDA, M. N. **Celulases e hemicelulases de espécie de *acremonium* endófiticos**. 2009. 70f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica Agrícola) – Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2009.

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemistry**. 11.ed. Washington, 1992. 1115 p.

AQUINO, A. C. **Otimização da maceração enzimática na polpa de bacuri (*platonina insignis mart.*)**. 2008. 116 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2008.

ATKINSON, N. Antibacterial substances from flowering plants. Antibacterial activity of dried Australian plants by rapid direct plate test. **J. Exp. Biol. Med. Sci.**, v. 34, n. 1, p. 17–26, 1956.

BARROS, S. P. N.; MAIA, G. A.; BRITO, E. S.; NETO, M. A. S.; SOUSA, J. A. Caracterização físico-química da polpa de noni (*Morinda citrifolia* L.). **Anais do XX Congresso Brasileiro de Fruticultura. 54th Annual Meeting of the Interamerican Society for Tropical Horticulture**. Vitória/ES, 2008.

BARROSO, A. E.; FORTUNY, R. C. S.; BELLOSO, O. M. A natural clouding agent from orange peels obtained using polygalacturonase and cellulose. **Food Chem.**, v. 92, n. 1, p. 55-61, aug. 2004.

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

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 12, de 4 de setembro de 2003. Aprova o regulamento técnico para fixação dos padrões de identidade e qualidade gerais para suco tropical. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 9 de set. 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução – RDC nº 205, de 14 de novembro de 2006. Estabelece Regulamento Técnico sobre Enzimas e Preparações Enzimáticas para Uso na Produção de Alimentos Destinados ao Consumo Humano. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, de 17 de novembro de 2006.

BUGGENHOUT, S. V.; SILA, D. N.; DUVETTER, T.; LOEY, A. V.; HENDRICKX, M. Pectins in Processed Fruits and Vegetables: Part III—Texture Engineering. Comprehensive reviews in food science and food safety. **Instit. of Food Technol.**, v. 8, p. 105-117, 2009.

BUI, A. K. T.; BACIC, A.; PETTOLINO, F. Polysaccharide composition of the fruit juice of *Morinda citrifolia* (Noni). **Phytochemistry**, v. 67, n. 12, p. 1271-1275, jun. 2006.

BYU **Food Quality Assurance Laboratory** – Testing Techniques. Bostwick Consistometer. Disponível em: <http://www.foodqalab.byu.edu/>. Acesso em: 25/01/2006.

CARDON, D. **Le Monde des Teintures Naturelles**. Paris: Belin, 2003, 586p.

CARPITA, N.C.; McCANN, M.C. The cell wall. In: BUCHANAN, B.B; GRUISSEM, W.; JONES, R.L. **Biochemistry & Molecular Biology of Plants**. 3.ed. Rockville, Maryland: American society of plant physiologists, 2000. p. 52-108.

CÉSAR, L. T. **Obtenção de suco clarificado de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) com utilização de pectinase e quitosana**. 2007. 95 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2007.

CHAN-BLANCO, Y.; VAILLAN, F.; PEREZ, A. M.; REYNES, M.; BRILLOUET, J.; BRAT, P. The noni fruit (*Morinda citrifolia* L.): A review of agricultural research, nutritional and therapeutic properties. **J. Food Comp. Anal.**, v. 19, n. 6-7, p. 645-654, sept./nov. 2006.

CHAN-BLANCO, Y.; VAILLANT, F.; PÉREZ, A. M.; BELLEVILLE, M.; ZÚÑIGA, C.; BRAT, P. The ripening and aging of noni fruits (*Morinda citrifolia* L.): microbiological flora and antioxidant compounds. **J. Sci. Food Agric.**, London, v. 87, n. 9, p. 1710-1716, Jul. 2007.

CHAVES, M. C. V.; GOUVEIA, J. P. G.; ALMEIDA, F. A. C.; LEITE, J. C. A.; SILVA, F. L. H. Caracterização físico-química do suco da acerola. **Rev. Biol. Ciênc. Terra**, Campina Grande, v. 4, n. 2, 2004.

CHITARRA, A. B.; CHITARRA, M. I. F. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2.ed. Lavras: UFLA, 2005. 783p. ISBN: 85-87692-27-5.

CHUNHIENG, T. **Développement de nouveaux neutraceutiques à partir de graines et fruits d'origine tropicale: application a la noix du Brésil Bertholettia excelsa et au fruit de Cambodge *Morinda citrifolia***. 2003. 181 f. Thèse (Docteur es Procédés biotechnologiques et alimentaires) – Centro de Sciences, Université de Nancy, France, 2003.

CLOTTEAU, M.S.; CABRAL, L.M.C.; MODESTA, R.C.D.; GOMES, F.S.; VENTURINI, W.; PALLET, D.; DORNIER, M.; REYNES, M. Enzymatic treatment using a polygalacturonase (Clarex Citrus 8XL) and a cellulase (Rapidase TF). **Anais do XVIII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 2002, Porto Alegre. Anais... Porto Alegre, p. 1544-1547, 2002.

COLLINS T.; GERDAY, C.; FELLER, G. Xylanases, xylanases families and extremophilic xylanases. **FEMS Microbiology**, v. 29, n. 1, p. 3-23, 2005.

COURI, S.; TERZI, S. C.; PINTO, G. A. S.; FREITAS, S. P.; COSTA, A. C. A. Hydrolytic enzyme production in solid-state fermentation by *Aspergillus niger* 3T5B8. **Process Biochem.**, Inglaterra, v. 36, n. 3, p. 255-261, 2000.

CRESCER a venda em domicílio. **Associação Brasileira de Empresas de Vendas Diretas (ABEVD)**. Disponível em: <http://www.abevd.org.br>. Acesso em: 17 mar. 2008.

DA SILVA, R.; FRANCO, C.M.L.; GOMES, E. Pectinases, hemicelulases e celulases, ação, produção e aplicação no processamento de alimentos: revisão. **Boletim do SBCTA**, Campinas, v. 31, n. 2, p. 249-260, 1997.

DELMER, D. P. Cellulose biosynthesis: exciting times for a difficult field of study. **Annu Rev Plant Physiol Plant. Mol. Biol.** Palo Alto. v. 50, p. 245-276, 1999.

DEY, P. M.; HARBORNE, J. B. **Plant Biochemistry.** San Diego: Academic Press, 1997. 554p.

DIXON, A. R., MCMILLEN, H., ETKIN, N. L. Ferment this: the transformation of Noni, a traditional Polynesian medicine (*Morinda citrifolia*, Rubiaceae). **J. Econ. Botany**, New York, v. 53, n. 1, p. 51-68, jan.1999.

EARLE, J. E. **Plantas Medicinales en el Tropico Humedo.** Guápiles de Pococí: San Jose e Guayacan, 2001. 246 p. ISBN 9968-16-106-3.

ELKINS, R. **Hawaiian Noni (*Morinda citrifolia*):** Prize herb of Hawaii and the South Pacific. Utah: Woodland Publishing, 1998.

ELKINS, R. **Noni (*Morinda citrifolia*) la hierba preciada del pacífico sur.** Utah: Woodland Publishing, 1997. 31p.

EMONS, A. M. C.; SCHEL, J. H. N.; MULDER, B. M. The geometrical model for microfibril deposition and the influence of the cell wall matrix. **Plant Biol.** New York, v.4, p.22-26, 2002.

FARIÑA, L. S. C.; RODRIGUES, I. M. M. A.; HENRIQUES, M. H. F.; SARAIVA, R. J. L. Optimização do rendimento do sumo de cenoura durante o processo produtivo. **Rev. Bras. Tecnol. Agroind.**, Campus Ponta Grossa, v. 1, n. 1, p. 64-81, 2007.

FRANCO, G. **Tabela de Composição Química dos Alimentos.** 9.ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 1992. 307p.

FURUSAWA, E.; HIRAZUMI, A.; STORY, S.; JENSEN, J. Antitumor Potential of a Polysaccharide-rich Substance from the Fruit Juice of *Morinda citrifolia* (Noni) on Sarcoma 180. **Phytother. Res.**, v. 17, n. 10, p. 1158-1164, 2003.

GERMOSEN-ROBINEAU, L. **Hacia una farmacopea caribañã.** 7.ed. Santo Domingo: Tramil, 1995. 696p.

GOMES, E.; GUEZ, M.A.U.; MARTIN, N.; SILVA, R. Enzimas termoestáveis: fontes, produção e aplicação industrial. **Quím. Nova.**, São Paulo, v. 30, n. 1, p. 136-145, 2007.

GRASSIN, C.; FAUQUEMBERGUE, P. Apple pomace liquefaction: a new technology. **Fruit Processing**, Oberhonnerfeld, v. 12, p. 490-495, 1996.

HELBIG, J.; LAPERCHE, S. Production of colour –intensive and colour stable juice. **Fruit Processing**, Oberhonnerfeld, v.2, p. 324-347, 2001.

HIRAZUMI, A.; FURUSAWA, E.; CHOU, S. C.; HOKAMA, Y. Immunomodulation contributes to anticancer activity of *Morinda citrifolia* (noni) fruit juice. **Proc. West. Pharmacol. Soc.**, v. 39, p.7-9, 1996.

HIRAZUMI, A.; FUSUSAWA, E. An immunomodulatory polysaccharide-rich substance from the fruit juice of *Morinda citrifolia* (noni) with anti-tumor activity. **Phytother. Res.**, v. 13, n. 5, p. 380-387, 1999.

IAL – Instituto Adolfo Lutz. **Métodos físico-químicos para análises de alimentos**. 4.ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2005. 1018p.

IKEDA, R.; WADA, M.; NISHIGAKI T.; NAKASHIMA, K. Quantification of coumarin derivatives in Noni (*Morinda citrifolia*) and their contribution of quenching effect on reactive oxygen species. **Food Chem.**, v. 113, n. 4, p. 1169-1172, 2009.

JAYANI, R.S.; SAXENA, S.; GUPTA, R. Microbial pectinolytic enzymes: a review. **Process Biochemistry**, Kidlington, v.40, n. 9, p.2931-2944, 2005.

JEN, J. J.; ROBINSON, M. L. Pectolytic enzymes in sweet bell peppers (*Capsicum annuum* L.). **J. Food Sci.**, Chicago, v.49, n. 4, p.1085-1087, 1984.

JENSEN, C. J.; WEST, B. J.; OGDEN, R.V.; STORY, S. P. 2005. A method for freeze concentrating *Morinda citrifolia*. **United States Patent**, 6,855,354.

KAMIYA, K.; TANAKA, Y.; ENDANG, H.; UMAR, M.; SATAKE, T. Chemical constituents of *Morinda citrifolia* fruits inhibit copper-induced Low-Density Lipoprotein oxidation. **J. Agric. Food Chem.**, v. 52, n. 19, p. 5843–5848, 2004.

KASHYAP, D. R., CHANDRA, S., KAUL, A., TEWARI, R. Production purification and characterization of pectinase from a *Bacillus* sp. DT7. **World Journal of Microbiology and Biotechnololy**, v.16, p. 277-282, 2000a.

KASHYAP, D. R.; VOHRA, P. K.; CHOPRA, S.; TEWARI, R. Applications of pectinases in the commercial sector: a review. **Appl. Sci.** London, p. 217-225, 2000b.

KOCH, J. H. D. Determination of falsified orange juice, **Deutsche Lebensmittel-Rundschau**, v. 6, p. 185-195, 1971.

LANDBO, A. K.; KAACK, K.; MEYER, A. S. Statistically designed two step response surface optimization of enzymatic prepress treatment to increase juice yield and lower turbidity of elderberry juice. **Inn. Food Sci. Emerg. Techn.**, v. 8, n. 1, p. 135-142, 2007.

LANG, C.; DÖRNENBURG, H. Perspectives in the biological function and the technological application of polygalacturonases. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 53, n. 4, p. 366-375, 2000.

LI, R. W.; MYERS, S. P.; LEACH, D. N.; LIN, G. D.; LEACH, G. J. A cross-cultural study: anti-inflammatory activity of Australian and Chinese plants. **J. Ethnopharmacol.**, v. 85, n. 1, p. 25-32, 2003.

LOCHER, C. P.; BURCH, M. T.; MOWER, H. F.; BERESTECKY, J.; DAVIS, H.; VAN POEL, B.; LASURE, A.; VANDEN BERGHE, D. A.; VLIETINCK, A. J. Anti-microbial activity and anti-complement activity of extracts obtained from selected Hawaiian medicinal plants. **J. Ethnopharmacol.**, Limerick, v. 49, n. 1, p. 23-32, 1995.

LÜBECK, W.; HANNES, H. **Noni el valioso tesoro de los mares del sur**. Madrid: EDAF S. A., 2001. 173p.

MACPHERSON, H.; DANIELLS, J.; WEDDING, B.; DAVIS, C. **The Potential for a New Value Adding Industry for Noni Tropical Fruit Producers**. Australia: Rural Industries Research and Development Corporation, 2007. 55p. ISBN 1- 4151-529-7.

MARCON, M.V. **Extração e caracterização de pectinas obtidas de farinha de bagaço de maçã**. 2004. 150f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Centro de Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual de Ponta Grossa, Paraná, 2004.

McCLATHEY, W. From Polynesian Healers to Health Food Stores: Changing Perspectives of *Morinda citrifolia* (Rubiaceae). **Integrative Cancer Therapies**, v. 1, n. 2, p. 110-120, 2002.

McKOY, M. G.; THOMAS, E. A.; SIMON, O. R. Preliminary Investigation of the Anti-inflammatory Properties of an Aqueous Extract from *Morinda citrifolia* (Noni). **Proc. West. Pharmacol. Soc.**, v. 45, p. 76–78, 2002.

MELAMET, R. **Noni promete saúde e bons negócios no país.** Disponível em: <http://www.sebraesc.com.br/novos_destaquos/oportunidade/mostrar_materia.asp?cd_noticia=8934>. Acesso em: 17 mar. 2008.

MELO, E. A.; LIMA, V. L. A. G.; NASCIMENTO, P. P. Temperatura no armazenamento de pitanga. **Sci. Agric.**, Piracicaba, v. 57, n. 4. p. 629-634, out/dez. 2000.

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

MONIZ, H. (1994). Noni (*Morinda citrifolia*) as a pharmaceutical product. **United States Patent**, Application No. 949994.

MORTON, J. F. The ocean-going noni, or Indian mulberry (*Morinda citrifolia*, Rubiaceae) and some of its “colorfull” relatives. **Ecological Botany**, v.46, n.3, p.241–256, 1992.

MOURA, C. L. A. **Maceração enzimática da polpa de cajá (*Spondias mombin* L.).** 2009. 66 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2009.

MÜLLER, J. C. **Toxicidade Reprodutiva da *Morinda citrifolia* Linn.** 2007. 103 f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) – Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.

NEIL, S.; M. D. **O fruto tropical de 101 aplicações medicinais sumo de noni (*morinda citrifolia*) fruto insular.** Geneva: Direct source publishing, 1999. 42p.

NELSON, S. C. Noni cultivation in Hawaii. **Tropical Agriculture and Human Resources Fruit and Nuts.** 2001. 4p.

NELSON, S. C. **Species profiles for pacific Island agroforestry: *Morinda citrifolia* L. (noni).** 2005. Disponível em: <http://www.traditionaltree.org>. Acesso em: 26 out. 2009.

NELSON, S. C.; ELEVITCH, C. R. **Noni: the complete guide for consumers and growers.** Holualoa-Hawaii: Permanent Agriculture Resources, 2006.

NOVOZYMES. Disponível em: < <http://www.novozymes.com.br>> Acesso em: 27 jan. 2009.

NUNES, J. C.; CAVALCANTE, L. F.; REBEQUI, A. M.; LIMA NETO, A. J. ; DINIZ, A. A.; SILVA, J. J. M.; BREHM, M. A. S. Formação de mudas de noni sob irrigação com águas salinas e biofertilizante no solo. **Eng. Amb.**, Espírito Santo do Pinhal, v. 6, n. 2, p. 451-463, 2009.

OLIVEIRA, M. C. S. **Avaliação do processo de fermentação alcoólica de suco de maçã obtido por liquefação enzimática.** 2006. 92 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Ponta Grossa, 2006.

OLSEN, H. S. **Enzymes in Food Processing.** In: Rehm H.J., Reed G. Biotechnology. VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim, 2.ed., p. 663-736, 1995.

ORDÓÑEZ, J.A.; RODRÍGUEZ, M.I.C.; ÁLVAREZ, L.F.; SANZ, M.L.; MINGUILLÓN, G.D.G.F.; PERALES, L.H.; CORTECERO, M.D.S. **Tecnología de alimentos.** v. 1. Componentes dos alimentos e processos. São Paulo: Artmed, 2005. 294p.

PANATO, E. ; JUNIOR, A. W. ; COTTA, R. M. M.; PELUZIO, M. C. G.; TINÔCO, A. L. A; BRUCKNER, C. H. Promoção da saúde: a importância das frutas e hortaliças e seu papel no câncer. **Mundo da saúde**, São Paulo, v. 3, n. 3, p. 384-393, 2007.

POTTERAT, O.; HAMBURGER, M. *Morinda citrifolia* (noni) fruit: phytochemistry, pharmacology, safety. **Planta Med.**, v. 73, n. 3, p. 191-199, 2007.

RAM, J. (2002). Noni processing and quality control: Protecting the image of Hawaiian products. In The 2002 Hawai'i noni **conference.** p.25–28.

RAMASSAMY, C. Emerging role of polyphenolic compounds in the treatment of neurodegenerative disease: a review of their intracellular targets. **European J. Pharmacol.**, v. 545, n. 1, p. 51-64, sept. 2006.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia Vegetal.** 6.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. 906p.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radic. Biol. Med.**, New York, v. 26, n. 9-10, p. 1231-1237, 1999.

RODRIGUEZ, F. M.; PINEDO, D. M. Mito y realidad de *Morinda citrifolia* L. (noni). **Rev. Cubana Plantas Méd.**, v. 9, n. 3, 2004.

ROSS, I. A. **Medical Plants of the World. Chemical Constituents, Traditional and Modern Medical Uses**. 2.ed. New Jersey: Humana Press, 2001. 242p.

ROWELL, M. R.; PETTERSEN, R.; HAN, J. S.; ROWEL, J. S.; TSHABALALA, M. A. **Handbook of Wood chemistry and Wood composites**. Cap. 3: Cell wall chemistry. CRC press. 487p. 2005.

SAHA, B. C. α -L -Arabinofuranosidases: biochemistry, molecular biology and application in biotechnology. **Biotechnology Advances**, v. 18, n. 5, p. 403-423, 2000.

SALUDES, J. P.; GARSON, M. J.; FRANZBLAU, S. G.; AGUINALDO, A. M. Antitubercular constituents from the hexane fraction of *Morinda citrifolia* L. (Rubiaceae). **Phytother. Res.**, v. 16, n. 7, p. 683-685, oct. 2002.

SANTIN, M. M. **Aplicação de tratamento enzimático combinado a microfiltração na clarificação de suco de pêssego**. 2004. 89 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Regional Integrada, Erechim- RS, 2004.

SCHIEBER, A.; FÜGEL, R.; HENKE, M.; CARLE, R. Determination of the fruit content of strawberry fruit preparations by gravimetric quantification of hemicellulose. **Food Chem.**, v. 91, n. 2, p. 365-371, 2005.

SHOVIC, A. C.; WHISTLER, W. A. New tropical food sources of provitamin A and vitamin C in the American Pacific. **J. Tropical Sci.**, v. 41, n. 4, p. 199-202, 2001.

SILA, D. N.; VAN BUGGENHOUT, S.; DUVETTER, T.; FRAEYE, I.; DE ROECK, A.; VAN LOEY, A.; HENDRICKX, M. Pectins in Processed Fruits and Vegetables: Part II—Structure Function Relationships. Comprehensive reviews in food science and food safety. **Instit. of Food Technol.**, v. 8, p. 86-104, 2009.

SILVA, E. G.; BORGES, M. F.; MEDINA, C.; PICCOLI, R. H.; SCHWAN, R. F. Pectinolytic enzymes secreted by yeasts from tropical fruits. **FEMS Yeast Res.**, Amsterdam, v. 5, n. 9, p. 859-865, 2005.

SILVA, L. R. D.; MEDEIROS, P. V. Q. D.; LEITE, G. A.; SILVA, K. J. P.; MENDONÇA, V.; SOUSA, J. A. D.; SILVA, M. S. **Caracterização físico-química do fruto de Noni**

(*Morinda citrifolia* L.). Disponível em <http://sengepb.com.br/site/wp-content/uploads/2009/12/t024.pdf.pdf>]. Acesso em: 07 dec. 2009.

SILVA, N. C. C. **Produto vinificado espumante de maçã obtido com células imobilizadas**. 1997. 102f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Bioquímica-Farmacêutica) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Universidade de São Paulo, São Paulo, 1997.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Jr. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **Amer. J. Enol. Viticult.**, v. 16, n. 3, p. 144-158, 1965.

SORENSEN, G.; BARBEN, E. M.; STODDARD, A. M. Tools for health: the efficacy of a tailored intervention target for construction laborers. **J. Cancer Caus. Control**, v. 18, n. 1, p. 51-59, feb. 2007.

SOUZA, J. V. B.; SILVA, E. S.; MAIA, M. L. S.; TEIXEIRA, M. F. S. Screening of fungal strains for pectinolytic activity: endopolygalacturonase production by *Peecilomyces clavissporus* 2A.UMIDA.1. **Process Biochem.**, v.39, n.4, p.455-458, 2003.

SOUZA, V. A. B.; VASCONCELOS, L. F. L.; ARAÚJO, E. C. E.; ALVES, R. E. **Bacurizeiro (*Platonia insignis* Mart.)**. (Série Frutas Nativas, 11). Jaboticabal: Funep, 2000. 72p.

SPAGNUOLO, M.; CRECCHIO, C.; PIZZIGALLO, M.D.R.; RUGGIERO, P. Synergistic effects of cellulolytic and Pectinolytic enzymes in degrading sugar beet Pulp. **Bioressour. Technol.**, v. 60, n. 3, p. 215-222, 1997.

STROHECKER, R.; HENNING, H. M. **Analisis de vitaminas: métodos comprobados**. Madrid: Paz Montalvo, 1967. 428p.

SU, B.; PAWLUS, A. D.; JUNG, H.; KELLER, J. K.; MCLAUGHLIN, J. L.; KINGHORN, D. Chemical Constituents of the Fruits of *Morinda citrifolia* (Noni) and Their Antioxidant Activity. **J. Nat. Prod.**, v. 68, n. 4, p. 592-595, 2005.

SU, C.; WANG, M. Y.; NOWICKI, D.; JENSEN, J.; ANDERSON, G. Selective COX-2 inhibition of *Morinda citrifolia* (Noni) *in vitro*. The proceedings of the Eicosanoids and other Bioactive Lipids in Cancer, Inflammation and Related Disease. **Annals** of The 7th Annual Conference, Tennessee, USA, 2001.

SUN, Y.; WANG, Z.; WU, J.; CHEN, F.; LIAO, X.; HU, X. Optimising enzymatic maceration in pre-treatment of carrot juice concentrate by response surface methodology. **Int. J. Food Sci. Technol.**, v. 41, n. 9, p. 1082-1089, 2006.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Paredes celulares: estrutura biogênese e expansão. **Fisiologia vegetal**. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719p.

UENOJO, M.; PASTORE, G. M. Pectinases: aplicações industriais e perspectivas. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 388-394, mar./apr. 2007.

VAILLANT, F.; CISSEA, M.; CHAVERRIB, M.; PEREZ, A.; DORNIER, M.; VIQUEZ, F.; DHUIQUE-MAYERA, C. Clarification and concentration of melon juice using membrane processes Innovative. **Food Sci. Emerg. Technol.**, Berlin, v. 6, n. 2, p. 213-220, june. 2005.

VEIGA, R. F. A.; BARBOSA, W.; HIROCE, R.; MENDACOLLI, S. L. J.; TOMBOLATO, A. F. C.; COSTA, A. A. Noni: Frutífera medicinal em introdução e aclimatação no Brasil. **O Agrônômico**, Campinas, v. 57, n. 1, p.20-21, 2005.

VINCKEN, J. P.; SCHOLS, H. A.; OOMEN, R. J.; McCANN, M. C.; ULVSKOV, P.; VORAGEN, A. G. If homogalacturonan were a side chain of rhamnogalacturonan I. Implications for cell wall architecture. **Plant Physiology**, v. 132, n. 4, p. 1781-1789, 2003.

VORA, H.; KYLE, W.; SMALL, D. Effect of enzymes treatment of carrots pulp on juice yield and quality. **Food Australia**, v. 51, n. 4, p. 146-147, 1999.

WANG M., SU C. Cancer preventive effect of *Morinda citrifolia* (Noni). **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 952, p. 161-168, 2001.

WANG, M. Y.; WEST, B.; JENSEN, C. J.; NOWICKI, D.; SU, C., PALU, A. K., ANDERSON, G. *Morinda citrifolia* (Noni): A literature review and recent advances in Noni research. **Acta Pharmacol. Sin. USA**, v. 23, n. 12, p. 1127-1141, 2002.

WANG, M.; KIKUZAKI, H.; CSISZAR, K., BOYD, C. D.; MAUNAKEA, A.; FONG, S. F. T.; GHAI, G.; ROSEN, R. T.; NAKATANI, N.; Ho, C. Novel trisaccharide fatty acid Ester identified from the fruits of *Morinda citrifolia* (Noni). **J. Agric. Food Chem.**, v. 47, p. 4880-4882, 1999.

WEST, B. J.; TOLSON, C. B.; VEST, R. G.; JENSEN, S.; LUNDELL, T. G. Mineral variability among 177 commercial noni juices. **Int. J. Food Sci. Nutr.**, v. 57, n. 7-8, p. 556-558, 2006.

WESTENDORF, J.; EFFENBERGER, K.; IZNAGUEN, H.; BASAR, S. Toxicological and analytical investigations of noni (*Morinda citrifolia*) fruit juice. **J. Agric. Food Chem.**, v. 55, n. 2, p. 529-37, 2007.

WHISTLER, R. L. Introduction to Industrial Gums. In: WHISTLER, R. L.; BeMILLER, J. N. **Industrial Gums: Polysaccharides and Their Derivatives**. 3.ed. San Diego: Academic Press, 1993. p. 1-19.

WILKINS, M.R.; WIDMER, W.W.; GROHMANN, K.; CAMERON, R.G. Hydrolysis of grapefruit peel waste with cellulase and pectinase enzymes. **Bioresour. Technol.**, v. 98, n. 8, p. 1596-1601, 2007.

WILLATS, W. G. T.; KNOX, J. P.; MIKKELSEN, J. D. Pectin: new insights into an old polymer are starting to gel. **Trends Food Science & Technol.**, v. 17, n. 3, p. 97– 104, 2006.

WILLATS, W. G. T.; McCARTNEY, L.; MACKIE, W.; KNOX, J. P. Pectin: cell biology and prospects for functional analysis. **Plant Molecular Biology**, v. 47, n. 1-2, p. 9–27, 2001.

WONG, K. K. Y.; SADDLER, J. N. **Applications of hemicellulases in the food, feed, and pulp and paper industries**. In: COUGHLAN, M. P.; HAZLEWOOD, G. P. Hemicellulose and hemicellulases. London: Portland Research Monograph, 1993. p. 127-143.

WOOD, T. M.; BHAT, K. M. Methods for measuring cellulose activities. **Method. Enzymol.**, California, USA, v. 160, p. 87-112, 1988.

YANG, J.; PAULINO, R.; JANKE-STEDRONSKY, S.; ABAWI, F. Free-radical-scavenging activity and total phenols of noni (*Morinda citrifolia* L.) juice and powder in processing storage. **Food. Chem.**, v. 102, p. 302-308, 2007.

YAPO, B. M.; KOFFI, K. L. Yellow passion fruit rind – a potential source of lowmethoxyl pectin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 54, n. 7, p. 2738-2744, 2006.

YOUNOS, C.; ROLLAND, A.; FLEURENTIN, J.; LANHERS, M. C.; MISSLIN, R.; MORTIER, F. Analgesic and behavioral effects of *Morinda citrifolia*. **Planta Med.**, v. 56, n. 5, p. 430-434, 1990.

YUSOF, S; IBRAHIM, N. Quality of soursop juice after pectinase enzyme treatment. **Food Chem.**, v. 51, n. 1, p. 83-88, 1994.

ZADERNOWSKI, R.; BOROWSKA, J.; KOWALSA, M.; BUDREWICZ, G.; SZAJDEK, A. Quality of carrots juice as conditioned by raw material and technology, **Sci. Res.**, p.183-192, 2003.

ZIN, Z. M.; ABDUL-HAMID, A.; OSMAN, A. Antioxidative activity of extracts from Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) root, fruit and leaf. **Food Chem.**, v. 78, n. 2, p. 227–231, aug. 2002.