

MIRELLA LIMA BINOTI

APLICAÇÃO DE CAMPO ELÉTRICO PULSADO DE
MODERADA INTENSIDADE NA QUALIDADE FUNCIONAL DE
ABÓBORA

Tese apresentada à Universidade Federal
de Viçosa, como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em Ciência e
Tecnologia de Alimentos, para obtenção do
título de *Doctor Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2012

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

B614a
2012

Binoti, Mirella Lima, 1981-

Aplicação de campo elétrico pulsado de moderada
intensidade na qualidade funcional de abóbora / Mirella Lima
Binoti. – Viçosa, MG, 2012.
viii, 199f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Afonso Mota Ramos.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Compostos bioativos. 2. Abóbora - Processamento.
3. Abóbora - Qualidade. 4. Abóbora - Nutrição. 5. Abóbora -
Tecnologia pós-colheita. I. Universidade Federal de Viçosa.
II. Título.

CDD 22. ed. 664.80562

MIRELLA LIMA BINOTI

APLICAÇÃO DE CAMPO ELÉTRICO PULSADO DE
MODERADA INTENSIDADE NA QUALIDADE FUNCIONAL DE
ABÓBORA

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

Aprovada: 12 de julho de 2012.

Prof. Paulo Cesar Stringheta
(Coorientador)

Profa. Ellen Silva Lago Vanzela

Prof. Luciano José Quintão Teixeira

Profa. Aurélia Santos Faraoni

Prof. Afonso Mota Ramos
(Orientador)

Dedico essa tese aos meus pais e ao professor Prof. Afonso Mota Ramos

Agradeço primeiramente a Deus, que esteve comigo em todos os momentos, me iluminando e me dando forças para seguir sempre em frente.

Aos meus pais e família que sempre me apoiaram e me incentivaram, ao meu namorado Marcos.

Ao professor Afonso que confiou em minha capacidade e me aceitou como sua aluna.

E a todos que direta ou indiretamente contribuíram para que eu lograsse o tão almejado título de “Doutora”:

Orientadores da Espanha: Prof^a Olga Martín Belloso, Prof. Pedro Elez-Martinez

Amigos da Espanha: Janeth, Liliana, Mariana, Laura, Rogelio, Guilherme, Cyndia, Ester, Fernando, Magda, Gemma, Maria, Bernarda, Si Wen, Vickytoria, Flor, Emilio, Nuria

Amigo do Lab. Processamento de frutas e hortaliças: Marcos, Anderson, Eliane, Marcela, Welliton, Ana, Daniele, Erick, Lígia, Érica, Aurélia

Maria Emília e Aurélia, pela grande ajuda com a estatística, Co-orientadoes: Paulo Stringheta, Valéria Paula Rodrigues Minim

RESUMO

BINOTI, Mirella Lima. D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2012. **Aplicação de campo elétrico pulsado de moderada intensidade na qualidade funcional de abóbora.** Orientador: Afonso Mota Ramos. Coorientadores: Olga Martin Beloso, Paulo César Stringheta e Valéria Paula Rodrigues Minim.

Este estudo avaliou o efeito do Campo elétrico pulsado de moderada intensidade (CEPMI) sobre os compostos bioativos de pedaços de abóbora minimamente processados, com o intuito de obter um produto com maior qualidade funcional do que os que se encontram no mercado. O trabalho foi dividido em 6 fases. Primeiramente, analisou-se o efeito dos CEPMI de 0,4 kV/cm e 30 pulsos ou 2,0 kV/cm e 30 pulsos sobre os compostos bioativos (compostos fenólicos totais, carotenóides totais, vitamina C) e sobre a atividade antioxidante, armazenados a 5, 15 ou 25 °C por seis dias. Em seguida (fase 2) foi estudado o efeito de várias combinações de intensidade de campo e número de pulsos elétricos: 0,4; 1,2 e 2,0 kV/cm cada uma combinada com 5, 20 e 35 pulsos, sobre os mesmos compostos bioativos em pedaços de abóbora com e sem casca. Na terceira fase analisou-se o efeito do tratamento em pedaços de abóbora com casca (0,4 kV/cm e 20 pulsos ou 2,0 kV/cm e 5 pulsos) e em pedaços sem casca (0,4 kV/cm e 35 pulsos) ao longo de um período de 15 dias, sobre características microbiológicas e físico químicas, a taxa respiratória e a produção de etileno, e posteriormente (fase 4) sobre os compostos bioativos (compostos fenólicos e flavonóides totais, carotenos individuais, vitamina C) e atividade antioxidante (lipofílica e hidrofílica). Os pedaços de abóbora com casca (0,4 kV/cm e 20 pulsos ou 2,0 kV/cm e 5 pulsos) foram utilizadas para produzir purês, pasteurizados e congelados, armazenados por um período de sete semanas. Os purês foram submetidos a análise das características físico-químicas e viscosidade (fase 5); e dos compostos bioativos (compostos fenólicos e flavonóides totais, carotenos individuais, vitamina C) e atividade antioxidante (lipofílica e hidrofílica) (fase 6). O tratamento de campo elétrico pulsado de moderada intensidade foi eficiente para promover o incremento no conteúdo de compostos bioativos em pedaços de abóbora,

obtendo-se assim produto com valor nutricional aumentado capaz de atender a demanda dos consumidores por alimentos práticos e saudáveis. Além de ser um produto microbiologicamente apto para o consumo e não haver alterações nas características físico-químicas, na taxa respiratória e na viscosidade das amostras analisadas.

ABSTRACT

BINOTI, Mirella Lima. D.Sc. Universidade Federal de Viçosa, July, 2012. **Applying electric field pulse of moderate intensity in functional quality of pumpkin.** Advisor: Afonso Mota Ramos. Co-advisors: Martin Belloso Olga, Paulo Cesar Stringheta and Valeria Paula Rodrigues Minim.

This study evaluated the effect of pulsed electric field of moderate intensity (PEFMI) on the bioactive compounds of minimally processed pumpkin pieces in order to obtain a higher quality product functioning than those who are on the market. The work was divided into six phases. First, we analyzed the effect of PEFMI of 0.4 kV/cm and 30 pulses or 2.0 kV/cm and 30 pulses on the bioactive compounds (total phenolics, total carotenoids, vitamin C) and the antioxidant activity stored at 5, 15 or 25 °C for six days. Then (phase 2) the effect of various combinations of field and number of electrical pulses: 0.4, 1.2 and 2.0 kV/cm, each combined with 5, 20 and 35 pulses, on these bioactive compounds in pumpkin pieces with and without skin. In the third phase was analyzed the treatment on pieces in pumpkin with skin (0.4 kV/cm and 20 pulses or 2.0 kV/cm and 5 pulses) and shelled pieces (0.4 kV/cm and 35 pulses) over a period of 15 days on microbiological and physicochemical characteristics, the respiratory rate and ethylene production, and later (stage 4) on the bioactive compounds (total phenolics and flavonoids, individual carotenes, vitamin C) and antioxidant activity (hydrophilic and lipophilic). The pieces of pumpkin shell (0.4 kV/cm and 20 pulses or 2.0 kV/cm and 5 pulses) were used to produce purees, pasteurized and frozen, stored for a period of seven weeks. The mashed potatoes were subjected to analysis of physicochemical characteristics and viscosity (stage 5), and bioactive compounds (total phenolics and flavonoids, individual carotenoids, vitamin C) and antioxidant activity (hydrophilic and lipophilic) (phase 6). The pulsed electric field treatment of moderate intensity was efficient to promote the increase in content of bioactive compounds in pumpkin pieces, thereby obtaining the product with increased nutritional value able to cater to requests from consumers for healthy and practical foods. Besides being a product microbiologically fit for consumption and no changes in the physico-chemical characteristics, respiratory rate and viscosity of the samples.

Sumário

RESUMO.....	iv
ABSTRACT.....	vi
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	1
1.1 ABÓBORA.....	2
1.2 COMPONENTES ANTIOXIDANTES PRESENTES NA ABÓBORA	5
1.2.1 COMPOSTOS FENÓLICOS	5
1.2.2 ÁCIDO ASCÓRBICO.....	6
1.2.3 CAROTENÓIDES	7
1.3 ESTRESSE VEGETAL	8
1.4 CAMPO ELÉTRICO PULSADO (CEP).....	12
1.5 EFEITOS DO TRATAMENTO DE CAMPO ELÉTRICO PULSADO SOBRE CÉLULAS.....	14
1.6 CAMPO ELÉTRICO DE MODERADA INTENSIDADE (CEPMI) COMO ESTRESSOR.....	16
1.7 CAMPO ELÉTRICO DE MODERADA INTENSIDADE (CEPMI) NA EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS	17
1.8 METODOLOGIA GERAL	19
1.8.1 PROCESSAMENTO DOS FRUTOS.....	19
1.8.2 ABÓBORA MINIMAMENTE PROCESSADA	20
1.8.3 PRODUÇÃO DO PURÊ DE ABÓBORA	21
1.8.4 TRATAMENTO DE CEPMI	21
1.8.5 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DO FRUTO	23
DETERMINAÇÕES ANALÍTICAS.....	24
1.8.6 TEXTURA.....	24
1.8.7 COR DA POLPA	28
1.8.8 COEFICIENTE DE RESPIRAÇÃO.....	29
1.8.9 DETERMINAÇÃO DO CONTEÚDO TOTAL DE COMPOSTOS FENÓLICOS E FLAVONÓIDES TOTAIS.	29
1.8.10 DETERMINAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE CAROTENÓIDES TOTAIS	30
1.8.11 DETERMINAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO INDIVIDUALIZADA DOS COMPOSTOS CAROTENÓIDES MEDIANTE HPLC-DAD	31
1.8.12 VITAMINA C	33
1.8.13 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE TOTAL, HIDROFILICA E LIPOFILICA.....	34

1.8.14	PROPRIEDADES FÍSICAS.....	35
1.8.15	VISCOSIDADE.....	35
1.8.16	MICROBIOLOGIA.....	36
1.8.17	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANALISE DOS RESULTADOS.....	36
1.9	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	37
2	ARTIGOS.....	48
2.1	ARTIGO 1 - Effects of pulsed electric fields on the bioactive compound content and antioxidant capacity of pumpkin stored at different temperatures.....	48
2.2	ARTIGO 2 Effect of pulsed electric fields on the bioactive compounds of fresh-cut pumpkin.....	71
2.3	ARTIGO 3- Características microbiológicas e físico químicas, taxa respiratória e produção de etileno em pedaços de abóbora minimamente processados submetidos a campo elétrico pulsado de moderada intensidade.....	87
2.4	ARTIGO 4 - Efeito do campo elétrico pulsado de moderada intensidade sob os compostos bioativos e a atividade antioxidante (hidrofílica e lipofílica) de pedaços de abóbora minimamente processados.....	120
2.5	ARTIGO 5 – Efeito do campo elétrico pulsado de moderada intensidade sob as características físico-químicas e viscosidade de purê de abóbora pasteurizado ou congelado.....	149
2.6	ARTIGO 6 - Efeito do campo elétrico pulsado de moderada intensidade sobre os compostos bioativos em purê de abóbora pasteurizado ou congelado.....	169
3	CONCLUSÃO GERAL.....	199

1- INTRODUÇÃO GERAL

A abóbora pertencente à família *Cucurbitaceae*, é nativa das Américas tropicais e subtropicais, e dentre as principais espécies destacam-se: *Cucurbita pepo*, *Cucurbitamoschata* e *Cucurbita máxima*(ABH, 2008). A espécie *Butternut* (*Cucurbita moschata Duchesne ex Poiret*) é popularmente conhecida como calabacita, apresenta sabor é preferido pelos consumidores e interessante versatilidade, pois pode ser utilizada tanto para o desenvolvimento de produtos doces quanto salgados (PLA et al., 2007).

Devido ao seu valor nutricional e conseqüente efeito de proteção da saúde, tem recebido considerável atenção nas últimas décadas, e seu potencial em usos medicinais foi explorado (FU et al., 2007). Estudos demonstram que o consumo de frutas e hortaliças ajuda a reduzir a incidência de enfermidades cardiovasculares e mortalidades por essa causa (SCALBERT et al., 2005), assim como certos tipos de câncer (NKONDJOCK et al., 2005). Por outro lado, a mudança dos hábitos alimentares e um estilo de vida mais sedentário têm propiciado um aumento do sobrepeso e obesidade na população. O aumento do consumo de frutas e hortaliças ajudaria a impedir o avanço desta tendência, já que a situação é preocupante em toda parte do mundo. Os antioxidantes presentes nesses alimentos neutralizam o efeito dos radicais livres, desempenhando uma função fundamental na prevenção de enfermidades (PINEDA et al., 1999). Os principais agentes oxidantes dos produtos vegetais são vitaminas C e E, pigmentos carotenóides, flavonóides e glucosinolatos (HOUNSOME et al., 2008). A abóbora é um fruto de valor nutritivo por seu elevado conteúdo em compostos carotenóides pré-cursors de vitamina A, como α e β - carotenos e a β -criptoxantina (MURKOVIC et al., 2002). Além de luteína que é um carotenóide envolvido na prevenção da degeneração macular (LANDRUM e BONE, 2001). São importantes alimentos ricos em carotenóides no mundo inteiro (AZEVEDO-MELEIRO e RODRIGUEZ-AMAYA, 2007).

Os consumidores cada vez são mais exigentes com a qualidade dos produtos que ingerem e mais conscientes sobre a relação entre alimentação e saúde. Por um lado, primam que o produto tenha uma alta qualidade

nutritiva e sensorial, e procuram prontos para o consumo que contenham poucos aditivos químicos, que sejam seguros, econômicos, e que não causem danos ao meio ambiente. Portanto, o desenvolvimento de tecnologias que aumentem as propriedades benéficas dos produtos e atendam a todas as demandas dos consumidores, resultaria na obtenção de produtos de maior valor agregado que despertariam novas expectativas para a agricultura e para a indústria. O CEPMI se encontra entre as tecnologias de processamento de alimentos que poderiam atender a essas necessidades.

Considerando todos os aspectos mencionados, o presente estudo objetivou a aplicação de CEPMI no tratamento de abóbora com a finalidade de se obter derivados com grande valor funcional. Uma vez que essa técnica pode favorecer a obtenção de matérias primas com maior conteúdo de compostos bioativos funcionais comparando com os convencionais.

1.1 ABÓBORA

A palavra "abóbora" é derivada da palavra latina *pepo*, que é um termo botânico para as frutas com casca dura e interior carnudo. Normalmente, qualquer fruta Cucurbita com uma cor laranja é considerada uma abóbora, porém, cultivares com frutos brancos, como "Lumina" e "Cotton Candy" também são considerados abóboras (BABADOOST e ZITTER, 2009). Na Figura 1 estão representados alguns cultivares de abóbora

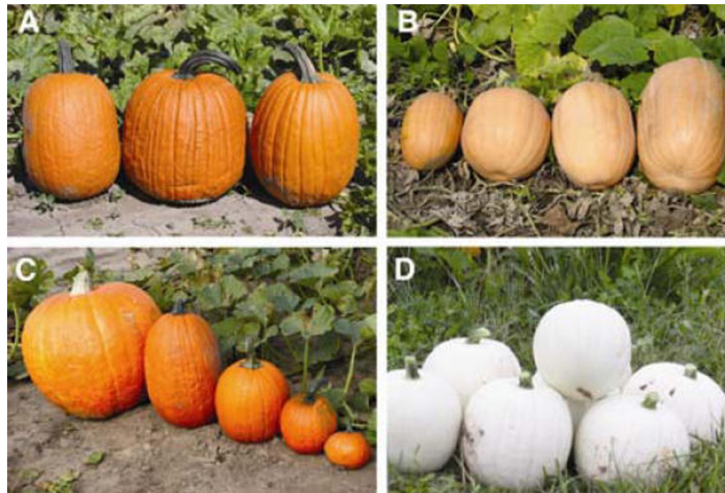


Figura 1. Abóboras: A. jack-o-lantern (cv. Howden); B. (cv. Dickinson); C. diferentes cultivares; D. abóbora branca (cv. Cotton Candy).

Fonte: (BABADOOST e ZITTER, 2009).

Abóbora (*Cucurbita moschata*) é nativa das Américas tropicais e subtropicais, sendo identificadas muitas espécies, tais como: *Cucurbita pepo*, *Cucurbitamoschata* e *Cucurbita maxima*, que é conhecida como moranga, porém todas pertencem à família *Cucurbitaceae* (ABH, 2008). O cultivar *Butternut* pode ser visualizada na Figura 2.



Figura 2. Abóbora espécie *Butternut* (*Cucurbita moschata* Duchesne ex Poiret)

Fonte: inev-tavel.blogspot.com

O armazenamento prolongado (2 a 5 meses) de acordo com a cultivar pode ser efetuado em ambientes com 60 a 80% de umidade relativa e sob temperaturas ligeiramente superiores a 12 °C (12 a 14 °C). Abóbora madura

possui vida útil longa e alguns genótipos podem ser armazenados por mais de 3 meses, mesmo em ambientes com temperatura ao redor de 20 °C (LUENGO e LOPES, 1995 citado por CALBO, 2001).

A abóbora também tem sido comercializada na forma minimamente processada. Nesse caso, a agregação de valor pode chegar até 8 vezes em relação ao preço do mesmo produto in natura. Quando minimamente processada, a abóbora é oferecida ao consumidor cortada em cubos dispostos em bandejas de isopor recobertas com filmes de PVC (CALBO, 2001). Uma das características mais marcantes de um tecido vegetal vivo é a manutenção de sua atividade respiratória dentre outras reações metabólicas. O metabolismo dos vegetais minimamente processados é acelerado pelos danos mecânicos ocorridos durante o processamento e podem ser potencializados por fatores endógenos ao produto (maturidade fisiológica, cultivar) e exógenas (temperatura, atmosfera, manuseio, micro-organismos) (PUSHMANN et al., 2002).

Os carotenóides são os pigmentos vegetais naturais responsáveis pela cor laranja da abóbora (AZIZAH et al., 2009). Elas são ricas nesse nutriente, sendo importantes formas de obtenção de carotenóides no mundo inteiro (AZEVEDO-MELEIRO e RODRIGUEZ-AMAYA, 2007). Devido ao seu valor nutricional e conseqüente efeito de proteção da saúde, tem recebido considerável atenção nas últimas décadas, e seu potencial em usos medicinais foi explorado. Estudos relatam que os polissacarídeos da abóbora, podem aumentar os níveis de insulina sérica, reduzindo os níveis de glicose no sangue e melhorando dessa forma, a tolerância a glicose e, portanto, poderia ser utilizada como novo agente anti-diabético (FU et al., 2007).

Alguns de seus usos comuns, na maioria dos países, são para tratamento de diabetes, de vermes e de parasitas (CAILI et al., 2006). As pesquisas sobre seu uso medicinal popular nas últimas décadas, e até agora, têm sido realizadas utilizando ferramentas modernas e creditando a abóbora como anti-hipertensivos, antidiabéticas, anti-tumorais, com atividade na imunomodulação, bactericida, coadjuvante na diminuição do colesterol, antiparasitário intestinal e anti-inflamatório. Verificou-se ainda que tecnologias tais como germinação e fermentação, podem reduzir

substâncias antinutricionais, as quais poderiam afetar as atividades farmacológicas citadas (CAILLI et al., 2006). A abóbora é um fruto de alto valor nutritivo por seu elevado conteúdo em compostos carotenóides pré-cursoros de vitamina A, como α e β - carotenos e a β - criptoxantina, assim como a luteína (MURKOVIC et al., 2002). A luteína é um carotenóide envolvido na prevenção da degeneração macular (LANDRUM e BONE, 2001).

Numa sociedade em que a preocupação com a saúde assume cada vez uma maior importância, torna-se essencial o desenvolvimento de produtos ricos em compostos, que além de beneficiarem a saúde humana, apresentem a capacidade de prevenir o aparecimento de certas doenças como o cancro e as doenças cardiovasculares. Estes compostos designam-se, geralmente, por compostos bioativos ou fitoquímicos e estão largamente presentes nos produtos vegetais, nomeadamente em frutos, na forma de compostos fenólicos, ácido ascórbico, carotenóides, tocoferóis, compostos nitrogenados, entre outros.

1.2 COMPONENTES ANTIOXIDANTES PRESENTES NA ABÓBORA

1.2.1 COMPOSTOS FENÓLICOS

Os compostos fenólicos são metabólitos secundários, presentes nos alimentos vegetais, que se dividem em flavonóides e não flavonóides (BURNS et al., 2001). Designam-se flavonóides todos os compostos que possuem a estrutura flavona ou uma forma hidrogenada dessa estrutura (CAMPOS, 2002). Suas propriedades químicas e bioquímicas dependem dessa estrutura química. Porém, todos desse grupo de compostos possuem o grupo fenol como elemento comum.

Nos frutos encontram-se predominantemente as antocianidinas, os flavonóis, as catequinas e as procianidinas. Nos tecidos vegetais, a maioria das antocianidinas e flavonóis ocorrem na forma glicosinolada (uma unidade de flavonóide e pelo menos um monossacárido). Os compostos não flavonóides são os ácidos fenólicos. Deste grupo fazem parte os ácidos benzóicos como o ácido gálico, que possuem sete átomos de carbono e são

os ácidos fenólicos mais simples; os ácidos cinâmicos como o ácido p-cumárico, que possuem nove átomos de carbono e as cumarinas que são derivados do ácido cinâmico. Os ácidos fenólicos possuem em sua estrutura química um anel benzênico, um grupo carboxílico e um ou mais grupos hidroxilo ou metoxilo (SOARES, 2002). Os fitofenóis desempenham um papel crucial na promoção da saúde e prevenção de doenças através de mecanismos relacionados à diferenciação celular, a desativação de pró-carcinogênicos, manutenção de reparo de DNA, inibição da formação de N-nitrosaminas e mudança do metabolismo do estrogênio, entre outros (SHAHIDI, 2004). Quando os tecidos vegetais saudáveis são sujeitos a lesões, como corte ou abrasão, produzem sinais que vão dos tecidos feridos para os tecidos saudáveis e induzem a síntese de proteínas específicas. Estas proteínas podem ser enzimas do metabolismo fenólico, como a PAL (fenilalanina amônia liase), ocorrendo acumulação de compostos fenólicos (SALTVEIT, 2000).

1.2.2 ÁCIDO ASCÓRBICO

O ácido ascórbico representa um componente hidrossolúvel da primeira linha de defesa contra os radicais livres, participa na desativação dos radicais superóxido e hidróxido do oxigênio singlete. É um poderoso antioxidante, pois impede a oxidação, isto é, a perda de elétrons. Permite também a regeneração da atividade antioxidante da vitamina E nos sistemas celulares e é indispensável à formação do tecido conjuntivo e do sistema imunitário. Em contato com o ar oxida-se facilmente e revela-se bastante solúvel em água (COXAM et al., 2008). Em sua estrutura química existe uma dupla ligação entre dois átomos de carbono, em que cada um deles possui uma hidroxila. Este composto oxida-se facilmente em ácido deidroascórbico, sendo esta reação reversível o que lhe permite a participação em processos de oxi-redução (CAMPOS, 2002).

O ácido ascórbico ocorre amplamente em tecido de plantas (onde a função é desconhecida) e também é sintetizado por quase todos os mamíferos, não sendo, portanto, uma vitamina essencial para eles, exceto para os primatas, os porcos da Índia e para alguns morcegos vegetarianos. Este último grupo utiliza as frutas como fonte de vitamina (COULTATE,

2004). Essa vitamina pertence a um grupo orgânico chamado de lactonas que são ácidos carboxílicos que se transformam em ésteres cíclicos, ou seja, ésteres de cadeia fechada que perderam água espontaneamente.

Sua molécula polar com quatro hidroxilas (OH), sendo duas delas na posição C=C, essas hidroxilas podem interagir entre si por pontes de hidrogênio, resultando num aumento de acidez da vitamina C, que apresenta uma boa solubilidade em água.

1.2.3 CAROTENÓIDES

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

Quimicamente classificam-se como tetra-terpenos, o seu esqueleto carbônico é formado devido à adição de unidades em C5 que formam geranyl-geranylpirofosfato e a junção de duas moléculas forma a estrutura em C40 (CAMPOS, 2002). São sintetizados e armazenados no aparelho fotossintético das plantas superiores e estão envolvidos no sistema absorvedor de luz e na defesa antioxidante contra a fotoxidação (DEMMING-ADAMS et al., 1996).

Nos tecidos vegetais intactos, a sua associação a proteínas, membranas e outros componentes, tornam os carotenóides bastante estáveis e protegidos e mesmo durante a maturação dos frutos normalmente as perdas e alterações ocorrem muito lentamente. No entanto, quando ocorre ruptura dos tecidos, há destruição dos carotenóides pela ação de lipoxigenases (geram compostos cíclicos) e outros processos de oxidação. Durante o processo de congelamento, se não existir oxigênio, os carotenóides mantêm-se estáveis, no entanto se não existir uma eficiente remoção do oxigênio, poderão ocorrer perdas significativas (BRITTON e MÉNDEZ, 1997).

Os carotenóides contidos na matriz alimentícia geralmente apresentam boa resistência aos processos de aquecimento brandos os

quais podem facilitar a biodisponibilidade desse nutriente, pois facilitam a incorporação do mesmo em micelas de gordura e ácidos biliares durante o processo absorptivo no trato digestório, facilitando a absorção pelo organismo (MÉNDEZ e MOSQUERA, 2007).

1.3 ESTRESSE VEGETAL

As plantas encontram uma vasta gama de meio ambiente durante um ciclo de vida típico, e por isso desenvolvem mecanismos para aumentar a sua tolerância às diferentes situações, como através de adaptações físicas e alterações moleculares e celulares que começam após o início do estresse. O primeiro passo para ativar tais respostas moleculares é perceber o estresse assim que ele ocorre, e repassar as informações através de uma via de transdução de sinal. Este processo pode levar a mudanças fisiológicas, como fechamento de células-guarda, ou a expressão de genes e resultando em modificação na biologia molecular e celular dos processos. O conhecimento sobre a sinalização das vias que levam ao fim do estímulo a resposta das plantas tem aumentado nos últimos anos, e é cada vez mais evidente que exista uma complexa rede de sinalização e que existe muita sobreposição entre os seus ramos, como a indução de muitos genes por mais de um estímulo particular (KNIGHT e KNIGHT, 2001).

Estudos do perfil de plantas submetidas a diferentes condições de estresse abiótico demonstram que cada tipo de estresse, ou seja, cada condição testada, provoca uma reação única, e pouca sobreposição na expressão de transcrição pode ser encontrada entre as respostas das plantas ao estresse abiótico, sob condições como calor, seca, sal, frio, luz elevada ou estresse mecânico (RIZHSKY et al., 2004; KREPS et al., 2002). São afetadas as vias envolvidas na biosíntese dos terpenos, dos fenóis e dos compostos nitrogenados (CISNEROS-ZEVALLOS, 2003). Os principais fatores que podem influenciar o acúmulo de metabólitos secundários em planta podem ser visualizados na Figura 3.

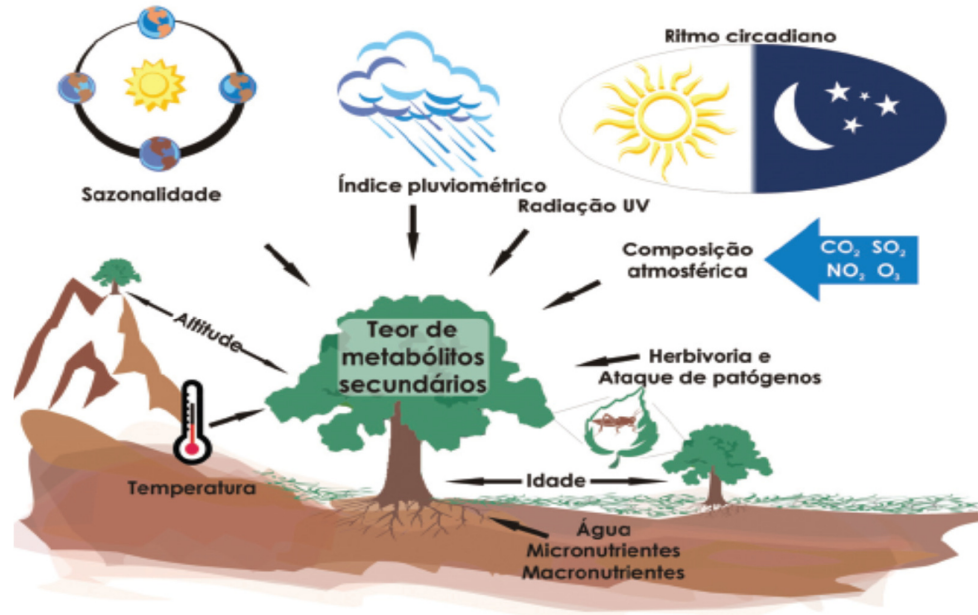


Figura 3. Principais fatores que influenciam o acúmulo de metabólitos secundários em planta

Fonte: GOBBO-NETO e LOPES, 2007.

O estresse abiótico afeta as rotas metabólicas implicadas na biossíntese dos principais grupos de compostos metabólicos secundários como: terpenos, compostos fenólicos e nitrogenados. Esses metabolitos, devido as suas atividades biológicas, são utilizados comercialmente como inseticidas, fungicidas, fármacos, fragrâncias, aromas, medicamentos e materiais industriais (GERSHENZON, 1998). Esse fato tem estimulado o interesse em desenvolver estratégias para aumentar o conteúdo dos mesmos em tecidos vegetais, como o cultivo tradicional (LLORACH et al., 2008), na prática de culturas (VALLEJO et al., 2003ab), ou na engenharia genética (ZHU et al., 2007). Alterações no acúmulo de metabólitos secundários foram encontradas, com vários metabolitos únicos, principalmente açúcares, acumulando especificamente durante a combinação de estresse (RIZHSKY et al., 2004).

O estresse abiótico pode ser utilizado nas atividades pós-colheita para incrementar a qualidade e rendimento dos produtos no campo (KALT et al., 2001), e ainda como ferramentas tradicionais para aumentar a vida útil dos

produtos vegetais, principalmente em relação a modificação de cor, texturas e aromas (KADER et al., 1992).

Alguns estudos demonstram que os estresses abióticos podem interferir o metabolismo dos produtos frescos e incrementar a síntese de fitoquímicos com valor funcional (SCHREINER e HUYSKENS-KEIL, 2006), pois afetam o conteúdo de metabolitos secundários dos tecidos vegetais. Entre os estresses abióticos empregados, se encontram o corte (SALTVEIT, 1997), a alteração das concentrações de O₂ e CO₂ em atmosferas controladas e modificadas, ou os tratamentos com etileno (C₂H₄) para o amadurecimento (KAYS, 1991), as radiações ou os agentes químicos, o uso de fitohormônios, e as baixas temperaturas. Segundo Durmaz e Alpaslan (2007) o descascamento, em damascossem gordura e na farinha torrada, resulta em aumentda atividade antioxidante.

O estresse mediante a utilização de métodos químicos não é uma proposta atrativa para a obtenção de produtos naturais. Os métodos físicos, exceto a radiação ionizante, parecem ser mais aceitos. Porém, os métodos físicos tradicionais de estresse como a temperatura e a pressão, são mais complicados de implementar que os químicos. A indução de estresse subletal através da aplicação de campos elétricos pulsados de moderada intensidade (CEPMI) é provável que seja uma alternativa potencial para estimulação do metabolismo pela indústria.

Em estudos recentes sobre novas tecnologias de processamento de alimentos, como a aplicação de campo elétrico pulsado de moderada intensidade, tem se sugerido a possibilidade de utilizar essas técnicas para estressar as células vegetais e estimular seu metabolismo secundário e, em conseqüência, a biossíntese de metabolitos com valor funcional benéfico para a saúde (GOMES-GALINDO et al., 2007). Através de um controle rigoroso dos parâmetros do tratamento de pulsos, a permeabilização pode não afetar a viabilidade celular. Porém, as respostas fisiológicas induzidas ao estresse por esta técnica são ainda desconhecidas (GOMEZ-GALINDO et al., 2009). Tem-se relatado que o CEPMI afeta o metabolismo, incluindo um estresse oxidativo com a conseqüente geração de espécies reativas de oxigênio (EROS) (SABRIET al., 1996), como uma resposta comum ao estresse. A indução de estresse mediante a aplicação de CEPMI poderia ser

uma alternativa potencial para o estímulo metabólico. A investigação é necessária para encontrar condições adequadas (por exemplo: o número de pulso, forma, polaridade, comprimento e tempo de tratamento) para a estimulação metabólica induzida por CEPMI. Essas condições podem ser esclarecidas a partir de uma compreensão das respostas fisiológicas (GOMES-GALINDO et al., 2008).

As espécies reativas de oxigênio (EROS) são moléculas formadas durante funções metabólicas normais nos cloroplastos, mitocôndrias e peroxissomos ou induzidas por estímulos ambientais aos quais as plantas estão constantemente expostas (ÉAUX, 2007). Porém, podem ser geradas com alterações no sistema de transporte de elétrons durante condições de estresse. O principal ponto de produção na célula durante o estresse são as organelas com alta atividade de oxidação metabólica ou com fluxo de elétrons sustentado: cloroplastos e mitocôndrias. O fenômeno de fotorrespiração, nos peroxissomos, é outra forma de produção (BREUSEGEM et al., 2001). Podem agir causando danos celulares ou como moléculas sinalizadoras que ativam múltiplas respostas de defesa. A predominância de uma destas funções depende da capacidade do controle da produção e sequestro das EROS (GADJEV et al., 2006). As plantas possuem mecanismos para proteger a célula e as estruturas subcelulares dos efeitos das EROS utilizando sistemas antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos, que são encontrados em diferentes organelas como cloroplastos, mitocôndrias e peroxissomos (PANG e WANG, 2008).

Entre os sistemas antioxidantes não enzimáticos, atuam a glutathione, o ácido ascórbico (vitamina C) e os compostos fenólicos. Antioxidantes não enzimáticos são representados pelas formas hidrossolúveis, como ascorbato e glutathione, e lipossolúveis, como α -tocoferol e carotenóides. Compostos fenólicos também eliminam radicais superóxido e hidroxila, além de oxigênio singlete (APEL e HIRT, 2004). Dentre os compostos fenólicos com propriedades antioxidantes, destacam-se os flavonóides que quimicamente, englobam as antocianinas e os flavonóis. As antocianinas são pigmentos solúveis em água, amplamente difundidas no reino vegetal e conferem as várias nuances de cor entre laranja, vermelha e azul encontradas em frutos, hortaliças, flores, folhas e raízes (FRANCIS, 1989).

Dentre os antioxidantes de natureza enzimática figuram as superóxido dismutases, as peroxidases, a catalase e a glutiona redutase (SUN et al., 2007). Como o estresse oxidativo compreende uma complexa série de fenômenos, o aumento simultâneo em diversos componentes do sistema de defesa antioxidante se faz necessário a fim de se obter maior tolerância ao estresse (RADETSKI et al., 2000). Os EROS têm sido sugerido como parte de componentes de sinal endógenos necessários para induzir a síntese de metabólitos secundários (BAKER e ORLANDI, 1995 citado por GOMEZ-GALINDO et al., 2009), os quais são amplamente considerados como parte da resposta de defesa das plantas ao estresse (SHOHAEL et al., 2006).

Ao utilizar CEPMI como estressor, resultados interessantes tem sido relatados para o campo farmacêutico, como o aumento do rendimento de um composto citostático em culturas de células de *Taxus chinensis* (YE et al., 2004), e para o campo da ciência da alimentação e nutrição, como aumento da concentração de antioxidantes e fitoesteróis a partir de sementes oleaginosas e frutas (GUDERJAN et al., 2007; BALASA, 2007 citado por GOMEZ-GALINDO et al., 2009). No entanto, estudos mais profundos do metabolismo podem contribuir para uma melhor compreensão do complexo e dinâmico comportamento dos tecidos vegetais submetidos a tal condição de estresse.

Portanto, existe a necessidade de elucidar como diferentes tecidos vegetais e suas rotas secundárias específicas respondem a diferentes estresses abióticos induzidos por técnicas novas, aplicados individualmente ou em combinação com outras tradicionais.

1.4 CAMPO ELÉTRICO PULSADO (CEP)

A unidade de processamento de alimentos típica para campos elétricos é um sistema simples, composto por uma fonte geradora de pulsos elétricos (fonte de alta voltagem) e uma câmara de tratamento. Dependendo do sistema utilizado, podem-se incluir alguns parâmetros de tratamento típico de campo elétrico pulsado, como: intensidade de campo, comprimento e frequência de pulso (WAN, 2009). Normalmente, 15 - 80 kVcm⁻¹, com vários pulsos de 1 - 5 µs são utilizados para eliminar micro-organismos e 0.1 - 5 kVcm⁻¹, com pulsos de 10 - 1000 µs para promover eletroporação

(fenômeno de permeabilização de membrana) de células vegetais e extração não térmica de compostos em alimentos sólidos (VOROBIEV e LEOVKA, 2010).

O sistema gerador de pulsos elétricos é composto por um gerador de alta tensão e um gerador de pulso; um banco de capacitores, resistências elétricas, um osciloscópio para medir a intensidade dos pulsos elétricos gerados e outros componentes eletrônicos comuns a vários sistemas elétricos. Os pulsos elétricos formados podem possuir forma de onda quadrada, exponencial, oscilatória e bipolar (BARBOSA-CÁNOVAS et al., 1999). É possível observar a forma do pulso plotando-se um gráfico de intensidade do campo elétrico versus tempo. No pulso exponencial, o campo elétrico atinge um valor máximo e depois decai de forma exponencial. No pulso quadrado, o campo elétrico se mantém em um valor máximo por certo período para depois cair abruptamente formando um quadrado no gráfico. Já os pulsos oscilantes e bipolares são obtidos por circuitos particulares capazes de produzir estas formas de pulsos (PETTIT et al., 2002).

As câmaras de tratamento possuem dois eletrodos entre os quais se posiciona o alimento a ser tratado, além de possuir um conjunto de dispositivos de monitoramento e controle (SOLIVA-FORTUNY et al., 2009). Podem ser estáticas ou contínuas. As estáticas tratam os alimentos em bateladas e são utilizadas com eficiência em atividades de pesquisa, já as contínuas proporcionam um fluxo contínuo e são mais adequadas aos processos industriais. Com a finalidade de maximizar a eficiência das câmaras, vários destes equipamentos surgiram nas últimas décadas, devendo sempre possibilitar um tratamento homogêneo, ter máxima eficiência tanto na inativação de enzimas como na destruição de microorganismos; minimizarem possíveis reações eletroquímicas e ruptura dielétrica no alimento enquanto este estiver sendo submetido ao tratamento de campo elétrico pulsado (RAMOS, 2006).

Os efeitos permeabilizantes do CEP sobre membranas biológicas são conhecidos desde os princípios do século XX, porém foi no final dos anos 90 quando se começou a investigar essa tecnologia para processar alimentos. Os CEP podem ser aplicados com uma intensidade de campo baixa, moderada ou alta, dependendo dos objetivos pretendidos. Por outro lado, a

maioria dos estudos existentes está relacionada à aplicação de pulsos elétricos de alta intensidade para a conservação de alimentos líquido, com a finalidade de obter produtos seguros e com extensa vida útil, e ainda com uma qualidade nutricional e sensorial elevada (SÁNCHEZ-MORENO et al., 2009). Já o campo elétrico pulsado de moderada intensidade (CEPMI) está sendo estudado atualmente para avaliar seu potencial permeabilizante em estruturas tissulares, permitindo assim, sua implementação no contexto das operações existentes na indústria alimentar, como a desidratação ou extração de compostos. Além disso, os CEPMI podem constituir uma técnica potencial para induzir reações estressantes em sistemas vegetais ou cultivos celulares e, portanto, pode-se incrementar ou estimular a bioprodução de certos compostos (GOMES-GALINDO et al., 2007).

A ação dos CEPMI está sendo estudada por diversos pesquisadores, os quais avaliam o efeito da eletroporação que sofrem as membranas. Basicamente, ao se aplicar os pulsos elétricos se gera um choque elétrico e uma modificação na estrutura da membrana celular, o que permite um incremento na permeabilidade da mesma. A formação de poros é um processo dinâmico e dependendo do tempo de tratamento, da forma da onda, da energia e da largura do pulso, do campo elétrico e da temperatura, pode ser reversível ou irreversível (HEINZ et al., 2002). O efeito dos CEPMI sobre a permeabilidade induzida tem sido estudada em tecidos e membranas de alguns vegetais (LEBOVKA et al., 2007), não sendo realizado, até o momento, em abóbora.

1.5 EFEITOS DO TRATAMENTO DE CAMPO ELÉTRICO PULSADO SOBRE CÉLULAS

Os efeitos de eletroporação e de eletrofusão que a aplicação de campos elétricos causa nas células são conhecidos desde 1940. Eles ocorrem quando a célula é submetida a um campo elétrico e são usados em engenharia genética para a manipulação de material intracelular. Se a intensidade do campo elétrico ultrapassar certo valor, ocorre a ruptura dielétrica da célula. Este fenômeno é que vem sendo estudado desde os anos 60 para serem utilizados em métodos de conservação de alimentos (OTUNOLA et al., 2008).

A exposição de uma célula biológica a um campo elétrico pulsado de alta intensidade conduz a um fenômeno de permeabilização de membrana, chamado de eletroporação, esse mecanismo ainda não é totalmente compreendido (ARONSSON, RONNER e BOCH, 2005). Porém, sabe-se que esse fenômeno se caracteriza por provocar desestabilização da bicamada lipídica e das proteínas de sua membrana, levando a formação de poros, que ocorre quando a membrana excede um valor potencial crítico de campo elétrico. Devido a intensidade do campo elétrico e número de pulsos, esta formação de poros é diretamente proporcional à inativação microbiana, ou seja, quanto maior for a intensidade do campo (acima do potencial de transmembrana crítica) maior será o grau de inativação. O potencial transmembrana natural da célula é de aproximadamente 1 V. Se a intensidade do campo for superior a esse limite ocorrerá, provavelmente, aumento da permeabilidade da membrana com formação de poros e eventual ruptura celular, podendo ser reversível se o campo elétrico for abaixo de certo valor crítico e por um período de tempo curto. Porém, se forem ultrapassados certos valores de intensidade de campo e de tempo de tratamento, o processo torna-se irreversível, ocorrendo perda de material celular e inativação da célula (KNORR et al., 2001).

Esta formação e crescimento de poros nas membranas biológicas são resultantes da sua polarização quando em condições de um campo elétrico externo (TEISSIE, 1999). Nas tecnologias de alimentos, a técnica de campo elétrico pulsado tem sido utilizada para pasteurização não térmica de produtos líquidos (BARSOTTI et al., 2001). Para os alimentos sólidos, o tratamento com CEP é geralmente método de suplementação para reforçar certos processos tais como a pressão (BAZHAL e VOROBIEV, 2000), centrifugação, decantação (KNORR et al., 2001), a desidratação osmótica (RASTOGI et al., 1999) e secagem (ADE-OMOWAYE et al., 2000). A eficiência destes processos pode ser deduzida pelo monitoramento da variação na qualidade das texturadas tratadas.

O grau de dano provocado pelo tratamento de CEP pode ser definido como a razão de danos celulares com o número total de células do tecido. Este grau de dano pode ser calculado na base em medições de

condutividade elétrica, pois a condutividade elétrica médio tecido aumenta com crescimento do seu grau de dano (LEVOBKA et al., 2002).

As medidas de compressão e relaxamento de tecidos de cenoura, maçã e batata, tratados com CEP por diferentes tempos foram realizados por Lebovka et al. (2004b). Após o tratamento com CEP ($E = 1,1 \text{ kV / cm}$; $0,1 \text{ s}$), os tecidos perderam parcialmente sua força inicial. Entretanto, as mudanças foram significativamente menores do que as alterações observadas para os tecidos pré-tratados com congelamento-descongelamento e termicamente ($T = 45 \text{ }^\circ\text{C}$, 2 h). Concluiu-se que o CEP permite a realização de uma elevada desintegração das membranas e remoção de turgor (componente da textura), no entanto, afetando menos a estrutura do tecido quando comparado aos outros tratamentos (LEBOVKA et al., 2004b).

O CEP também pode causar a ruptura dielétrica, a qual consiste numa descarga elétrica entre dois eletrodos da câmara, um fenômeno análogo a um relâmpago. Esta descarga de energia pode catalisar reações indesejáveis no alimento, ou em casos mais graves, a explosão da câmara de tratamento. A ocorrência desse fenômeno está relacionada a condutividade elétrica do alimento, assim, alimentos sólidos que contem ar em seu interior ou não são homogêneos apresentam maior probabilidade de ocorrência da ruptura dielétrica. Por isso, líquidos homogêneos, além de serem facilmente bombeados, permitem um fluxo contínuo e apresentam menor probabilidade de ocorrência desse fenômeno (RAMOS, 2006). A ruptura dielétrica ocorre quando o campo elétrico ultrapassa a força dielétrica do alimento e se caracteriza por correntes elétricas elevadas fluindo em canais estreitos; evolução de bolhas de gás; formações de incrustações nos eletrodos e aumento da pressão acompanhado por um som explosivo (ZHANG et al, 1995).

1.6 CAMPO ELÉTRICO DE MODERADA INTENSIDADE (CEPMI) COMO ESTRESSOR

Os compostos secundários de plantas são usualmente classificados de acordo com a sua rota biossintética. As três famílias de moléculas principais são geralmente consideradas: os compostos fenólicos, terpênicos

e compostos que contém nitrogênio. Em relação a bioprodução de metabólitos vegetais secundários mediante estresse produzido por CEPMI, Ye et al. (2004) investigaram o estímulo da produção e metabólitos secundários mediante pulsos elétricos em uma cultura celular de *Taxus chinensis*. Os CEPMI incrementaram a bioprodução de metabolitos secundários (taxuyunanina, fenóis totais) sem afetar negativamente o crescimento celular. Outro estudo verificou que o azeite obtido de gérmen de milho pré-tratado com CEPMI (0,6-1,3 kV/cm, 120 pulsos), aumentou a concentração de fitoesteróis em até 32%. No entanto, esse efeito não foi observado quando o gérmen de milho foi pré-tratado com campo elétrico pulsado de capacidade de permeabilização irreversível (7,3 kV/cm, 120 pulsos) (GUDERJAN et al., 2005). Gomez-Galindo et al. (2009) avaliaram o metabolismo do tecido de batata depois de submetê-lo a eletroporação reversível com CEPMI (0,2 – 0,4 kV/cm durante 1ms). A análise do metabolismo após 24h demonstrou que o tratamento provocou modificações no reservatório de hexona, isso ocorreu devido a uma degradação do amido. Portanto, esses resultados apontam que o tratamento com CEPMI constitui um potencial para induzir estresse nos tecidos vegetais provocando o estímulo da atividade metabólica e do acúmulo de metabolitos secundários.

Além disso, são numerosos os parâmetros críticos de processamento mediante CEPMI que influenciam na indução do metabolismo secundário de vegetais: intensidade de campo elétrico, tempo de tratamento, variação da temperatura; número e forma do pulso e geometria da câmara de tratamento (SOLIVA-FORTUNY et al., 2009). Portanto, se faz necessário otimizar os parâmetros de tratamento para conseguir a máxima bioprodução de metabolitos secundários com atividade antioxidante induzida por CEPMI dependendo do tecido vegetal a tratar.

1.7 CAMPO ELÉTRICO DE MODERADA INTENSIDADE (CEPMI) NA EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS

Os CEPMI oferecem diversas aplicações úteis para a indústria de alimentos. Está sendo investigado o incremento na extração de compostos intracelulares de tecidos vegetais para a melhora na obtenção de óleos, sucos e compostos específicos (CORRALES et al., 2008; LÓPEZ et al.,

2008ab, 2009; SCHILLIG et al., 2008), o aumento na velocidade de desidratação (GACHOVSKA et al., 2009), e a produção de metabólitos secundários mediante a indução de estresses em cultivos celulares vegetais (YE et al., 2004) e, mais recentemente, em produtos vegetais (GÓMEZ-GALINDO et al., 2009).

Extrações através de pressão e solventes são amplamente utilizadas na indústria de alimentos como suco, vinho, açúcar e produção de óleo vegetal. Esses métodos também são frequentemente aplicados para extração de diferentes compostos alvos (corantes, antioxidantes, óleos essenciais, aromas, proteínas citoplasmáticas, enzimas, polissacarídeos, etc) de alimentos sólidos (açúcar, beterraba, maçã, uva, etc) e biosuspensões (ex. suspensões de leveduras, células de *E. coli*, etc.). Pressão, água quente e extração com solvente orgânico são de longa data processos com excelente eficácia quando aplicado em ótimas condições (VOROBIEV e LEOVKA, 2010).

O rendimento dos compostos extraídos pode ser altamente elevado se as condições forem ideais. Infelizmente, a qualidade das soluções e produtos extraídos (por exemplo, a pureza, turbidez, cor, textura, sabor e nutrientes) pode ser degradada pelo processamento necessário para aumentar a produção da matéria-prima (por exemplo: moagem, aquecimento, adição de produtos químicos/enzima). Além disso, a purificação de extratos impuros requer perdas indesejáveis de solventes e outros aditivos e muitas vezes resultam em material com resíduos. Estes problemas devem ser resolvidos ou minimizados com a aplicação de tecnologias de alimentos que colaborem com o desenvolvimento sustentável do meio ambiente (VOROBIEV e LEOVKA, 2010).

Durante as últimas décadas, observou-se um crescente interesse em tecnologias alternativas de alimentos que permitam a conservação não térmica ou térmica leve de alimentos. Várias tecnologias emergentes, especialmente campos elétricos pulsados, ultrassom, micro-ondas, luz pulsada, aquecimento ôhmico, a irradiação, processamento por alta pressão hidrostática, descargas elétricas de alta tensão (HVED) e alguns outros se mostraram muito notável e de grande interesse para a indústria de alimentos (VOROBIEV e LEOVKA, 2010).

Em alimentos crus (de origem vegetal), os compostos bioativos estão inicialmente no interior das células, as quais devem de ser danificadas para facilitar a recuperação da matéria intracelular. Técnicas convencionais de danos, tais como, a fragmentação mecânica fina, tratamentos térmicos, químicos e enzimáticos, os quais podem levar a maior grau de desintegração dos componentes do tecido, incluindo parede celular e membranas celulares. O CEPMI pode ser usado para promover uma extração mais seletiva dos componentes celulares, por promover a formação de poros (eletroporação) além de ser menos destrutivo do que os métodos convencionais (VOROBIEV e LEOVKA, 2010).

1.8 METODOLOGIA GERAL

A variedade de abóbora escolhida para a realização desse trabalho foi a mais produzida e habitual na Catalunha (Espanha): Butternut (*Cucurbita moschata Duchesne ex Poiret*). Todos os frutos foram adquiridos no Mercado Central de Frutas e Hortaliças da cidade de Lleida (Espanha) com grau de maturidade comercial. O transporte até a Universidade de Lleida – Espanha foi realizado de forma a não provocar danos aos frutos, uma vez recebidos na planta piloto da universidade, se armazenaram a uma temperatura de $14^{\circ}\text{C} \pm 1$.

1.8.1 PROCESSAMENTO DOS FRUTOS

Os pedaços de abóbora foram obtidos a partir de frutos inteiros e sem danos aparentes na casca. Para o processamento, os frutos foram lavados em água corrente, sanitizados por 5 min em solução clorada de 200 mg.L^{-1} (cloro residual ativo), partidos ao meio, se retirou as sementes, e fatiados em pedaços de $40 \text{ g} \pm 10$; em alguns pedaços se procedeu também a retirada da casca com o auxílio de uma faca. Uma vez em pedaços, os mesmos foram submergidos em solução clorada de 50 mg.L^{-1} (cloro residual ativo) por 2 min.

Os pedaços sanitizados foram submetidos aos tratamentos de campo elétrico de moderada intensidade (CEPMI). Pedaços de abóbora sem tratamento foram utilizados como controle, conforme Figura 4.

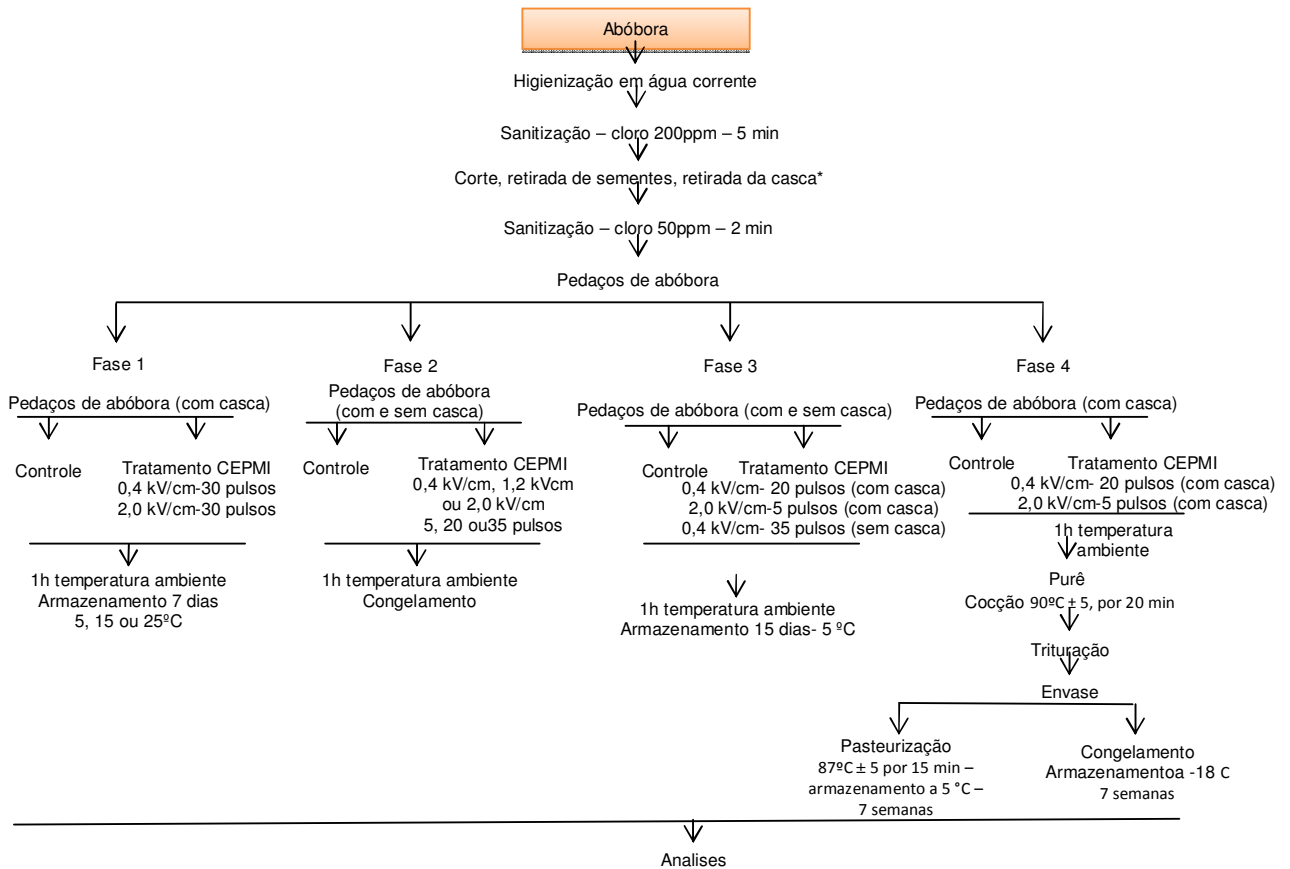


Figura 4. Processamento de campo elétrico pulsado de moderada intensidade em pedaços de abóbora minimamente processados

1.8.2 ABÓBORA MINIMAMENTE PROCESSADA

Após o processamento os pedaços de abóbora foram envasados em bandejas plásticas seladas a quente, e deixadas à temperatura ambiente por 1h, para permitir alguma resposta metabólica do tecido vegetal. Para a primeira fase do estudo, os pedaços de abóbora (tratados e não tratados) foram armazenados a diferentes temperaturas (5, 15 e 25°C) durante sete dias. Para a segunda fase, as amostras foram congeladas em bolsas plásticas, após 1h do término do processamento. Para a terceira fase, as amostras foram armazenadas a 5 °C por 15 dias. E para quarta fase os pedaços foram utilizados para a produção de purês. Após o período de armazenamento as amostras foram congeladas e liofilizadas antes de serem submetidas às análises (Figura 4).

1.8.3 PRODUÇÃO DO PURÊ DE ABÓBORA

Após o processamento e/ou tratamento com CEP os pedaços de abóbora foram cozidos a $90\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5$, por 20 min. Depois de retirada a água de cocção, triturados com o auxílio de uma batedora de haste para a obtenção dos purês. Os produtos foram envazados em bolsas seladas de 140 ± 10 g. Após o envase, parte das bolsas contendo a amostra foi submetida à pasteurização a $87 \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 15 nós (binômio definido com base nos processos de pasteurização utilizados para polpa de frutas não ácidas) (DUBE et al. 2004) e posterior resfriamento com gelo e armazenamento a $5\text{ }^{\circ}\text{C}$. A outra parte das bolsas foi congelada e armazenada a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$. O período de armazenamento dos purês durou 7 semanas. A cada semana as amostras eram liofilizadas e congeladas para posterior análise.

1.8.4 TRATAMENTO DE CEPMI

Os pedaços de abóbora minimamente processados foram submetidos ao tratamento de CEPMI em um equipamento de processamento por batelada (Physics International, San Leandro, CA, EUA). A aplicação do tratamento foi realizada submetendo o produto a um campo elétrico pulsado e confinando-o num meio aquoso entre dois eletrodos de maneira que se estabelecesse um campo uniforme entre eles.

Os parâmetros de processamento mediante CEPMI foram:

- A. Intensidade de campo elétrico: 0 – 2,0 kV/cm.
- B. Comprimento dos pulsos elétricos: $4\mu\text{s}$.
- C. Frequência da aplicação dos pulsos elétricos: 0,1 Hz.
- D. Numero de pulsos: 0 – 35 pulsos.
- E. Pulso monopolar e exponencial

O processamento com CEPMI foi realizado em quatro fases a seguir (Figura 4):

Fase 1:

- Aplicação do CEPMI em pedaços de abóbora minimamente processada com casca.

- Controle (pedaços de abóbora não tratados com CEPMI),
- CEPMI de 0,4 kV/cm e 30 pulsos.
- CEPMI de 2,0 kV/cm e 30 pulsos
- Armazenamento a 5, 15 e 25 °C por 6 dias.

Fase 2:

- Aplicação do CEPMI em pedaços de abóbora minimamente processada com e sem casca.
- Controle (pedaços de abóbora não tratados com CEPMI),
- CEPMI de 0,4 kV/cm - 5; 20 e 35 pulsos
- CEPMI de 1,2 kV/cm - 5; 20 e 35 pulsos
- CEPMI de 2,0 kV/cm - 5; 20 e 35 pulsos.
- Análises 1h após o processamento.

Para as fases 3 e 4 foram escolhidos os melhores resultados das fases 1 e 2.

Fase 3:

- Aplicação do CEPMI em pedaços de abóbora minimamente processada com casca:
 - Controle (pedaços de abóbora não tratados com CEPMI),
 - CEPMI de 0,4 kV/cm e 20 pulsos.
 - CEPMI de 2,0 kV/cm e 5 pulsos.
- Tratamento em pedaços de abóbora minimamente processada sem casca:
 - CEPMI de 0,4 kV/cm e 35 pulsos.
- Armazenamento a 5°C por 15 dias

Fase 4:

- Aplicação do CEPMI em pedaços de abóbora minimamente processada com casca:
 - CEPMI de 0,4 kV/cm e 20 pulsos.
 - CEPMI de 2,0 kV/cm e 5 pulsos.

- Produção de purês:
- Cocção: 90 °C - 20 min
- Tecnologia de conservação (estabilização):
 - Pasteurização a 87 ± 5 °C por 15 min, resfriadas com gelo e seguida de refrigeração.
 - Congelamento a -18°C.
- Armazenamento por sete semanas

Os tratamentos foram realizados de forma que não se alcançasse temperaturas prejudiciais ao produto. Uma vez processada as matérias primas, foram estudados o efeito dos CEPMI sobre seu conteúdo em compostos benéficos para a saúde (compostos fenólicos, flavonóides, carotenos, vitamina C, atividade antioxidante), efeito no metabolismo e propriedades físico-químicas.

1.8.5 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DO FRUTO

A caracterização química dos pedaços de abóbora foi determinada pelos métodos descritos a seguir, e o resultado é apresentado na Tabela 1.

A. Composição centesimal:

- a. Umidade. De acordo com a AOAC (2005).
- b. Proteína. Segundo o método de Kjeldahl, utilizando um fator de conversão: proteína = 6,25g de nitrogênio (AOAC, 2005).
- c. Gordura. De acordo com o método de Soxhlet (AOAC, 2005).
- d. Cinzas. De acordo com a AOAC (2005).
- e. Carboidratos. Foi determinado por diferença, o restante de 100 da porcentagem de umidade, proteína, gordura e cinzas.
- f. Sólidos solúveis: utilizou-se um refratômetro digital de bancada (ATAGO, RX-1000, ATAGO-CO, LTD, Japan) conforme normas da AOAC (2005). Os resultados foram expressos em % de sólidos solúveis.
- g. pH/acidez: a leitura foi realizada com um potenciômetro eletrônico (Cyber Scan, XS 510, Cingapura) utilizando-se 10 gramas de polpa diluída em 50 mL de água destilada.

- h. Acidez titulável: 10 gramas de polpa foi diluída em 50 mL de água destilada, a mistura foi então titulada com NaOH 0,05N utilizando-se solução alcoólica de fenolftaleína como indicador.

Tabela 1. Caracterização do fruto

Característica	Pedacos de bóbora	
	com casca	sem casca
pH	5,98±0,00	6,08±0,00
Acidez titulável (mg de ácido cítrico/100g de abóbora)	0,23±0,01	0,26±0,00
°BRIX	10,12±0,11	10,53±0,06
Proteína (%)	1,36±0,00	1,20±0,06
Lipídeos (%)	0,53±0,05	0,55±0,05
Carboidrato (%)	9,71±0,03	9,04±0,05
Umidade (%)	86,91±0,03	87,62±0,05
Cinzas	1,49±0,13	1,59±0,17
Fenóis totais (mg/100g)	43,33±9,79	23,43±0,74
Carotenos totais (mg/100g)	162,43±38,93	166,102 ±0,19
Atividade antioxidante (%)	87,40±8,33	80,40±6,33

DETERMINAÇÕES ANALÍTICAS

1.8.6 TEXTURA

Para medir a textura foram realizados dois testes com texturômetro Texture Analyzer TA.TX2 (Stable Micro Systems Ltd., Surrey, Inglaterra, Reino Unido). A saber: o método de corte e o perfil de textura (TPA), ambos os métodos são destrutivos. Antes da medição, foram retirados 3 cilindros do centro de cada pedaço de abóbora, que apresentavam 1,5 cm de diâmetro e comprimento diferentes, dependendo do teste a realizar: para o método de corte os cilindros foram de três centímetros e para TPA de 1 cm.

a. Método de corte

O método de corte utilizado é baseado no princípio da Warner Bratzler shear. Para isso, o texturômetro foi equipado com uma lâmina de Warner Bratzler, um guia de lâmina de suporte. A lâmina é reversível e tem um

buraco triangular com um ângulo de 60° , que é caracterizada por uma ponta afiada e outra plana (Figura 5).

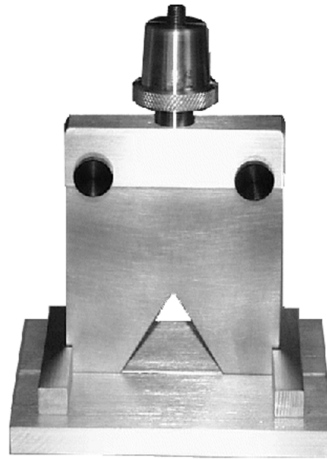


Figura 5. Lamina Warner Bratzler

O texturômetro mede a força máxima (N) para realizar um corte transversal na direção das fibras da amostra, que se correlaciona com a força necessária para morder a abóbora com os dentes. Na Figura 6 está exemplificada uma curva típica obtida em uma análise de corte.

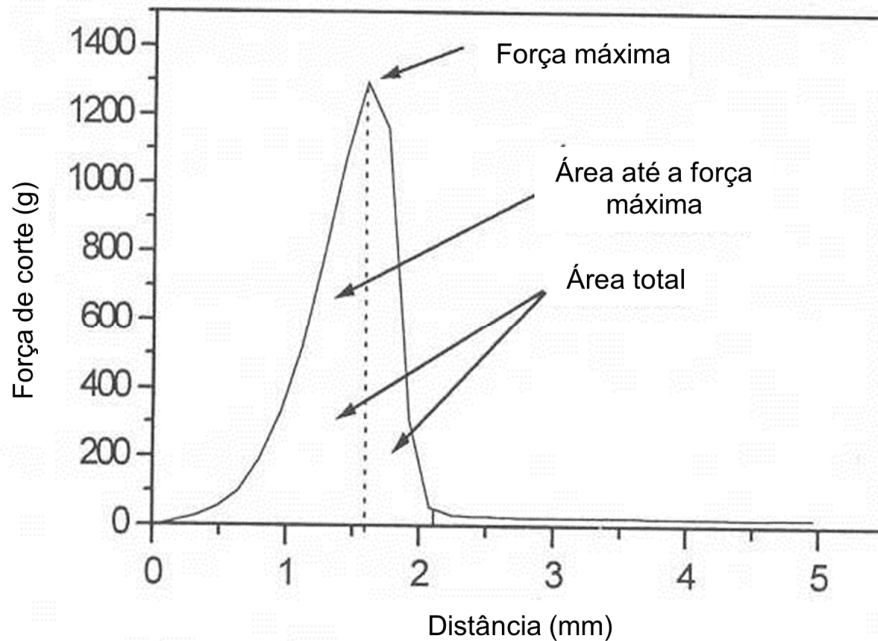


Figura 6. Curva típica da força de corte.

Para a realização do estudo foram definidos os seguintes parâmetros:

- Pré-teste de velocidade 2 mm/s
 - Teste de velocidade: 2 mm/s
 - Velocidade pós-teste: 10 mm/s
- b. Análise do perfil de textura (TPA).

O perfil da textura das amostras foi avaliado com uma sonda cilíndrica de 3,5 cm de diâmetro, com base plana, que comprime o alimento. Obtem-se uma curva força-tempo com as características da textura do produto. Na Figura 7 podemos ver uma curva típica obtida em um ensaio da TPA, com os parâmetros mais representativos.

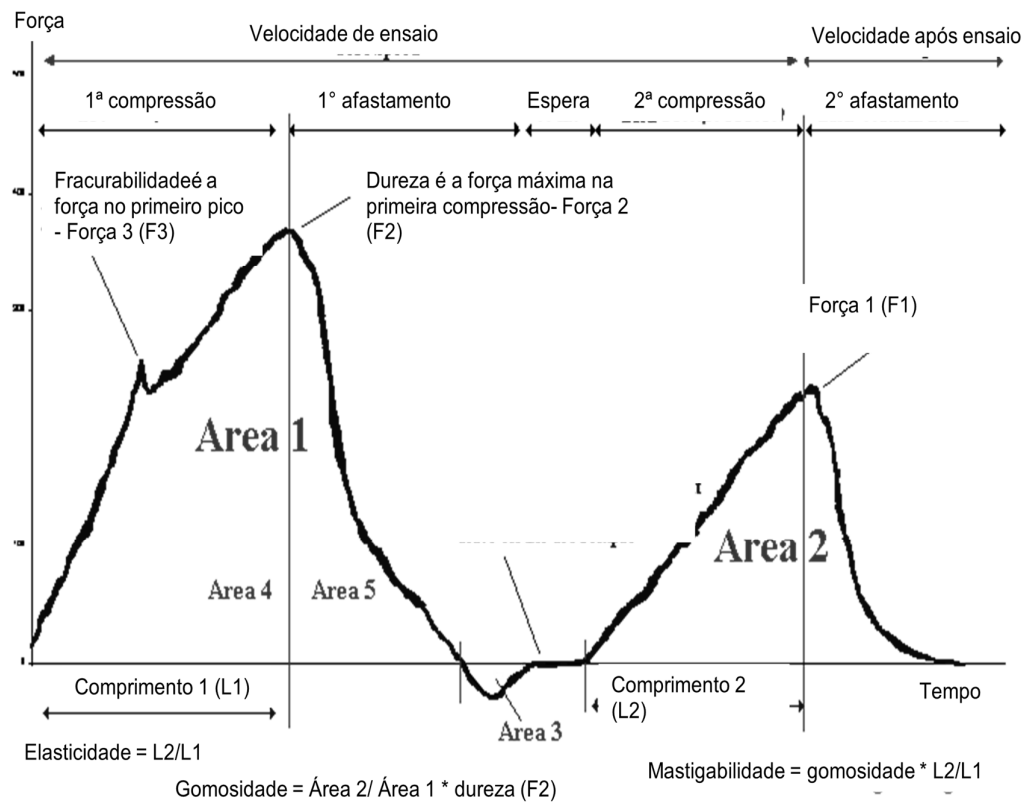


Figura 7. Testes de uma curva típica com parâmetros perfil de textura analisados.

Os parâmetros de perfil de textura analisados estão representados na Tabela 2.

Tabela 2. Definição e unidade de parâmetros perfil de textura analisados

Parâmetro	Unidade	Definição
Dureza	N	Força máxima correspondente ao primeiro ciclo.
Elasticidade	mm	Altura de recuperação da amostra durante o tempo transcorrido desde o final do primeiro ciclo e o começo do segundo.
Coesividade	-	Energia mecânica necessária para destruir a estrutura interna da amostra (A_2/A_1).
Gomosidade	N	Energia requerida para desintegrar uma amostra semi-sólida a um estado adequado para a deglutição. (Dureza x Coesividade)
Mastigabilidade	N·mm	Energia requerida para mastigar a amostra. (Gomosidade x Elasticidade)

Em que:

- Dureza = F2
- Elasticidade = L2/L1
- Coesividade = A5/A4
- Gomosidade = $A_2/A_1 \times F_2$
- Mastigabilidade = Gomosidade x Elasticidade = $A_2/A_1 \times F_2 \times L_2/L_1$

O ensaio foi realizado com dois ciclos consecutivos, estabelecendo os seguintes parâmetros:

- Velocidade pré-teste: 1 mm/s
- Teste velocidade: 5 mm/s
- Velocidade pós-teste: 5 mm/s
- % compressão: 50

Para normalizar os valores dos parâmetros obtidos no estudo, estes foram corrigidos com o peso médio de todas as amostras, de acordo com a fórmula (1). Portanto, cada cilindro de 1 cm de altura, foi pesado antes da medição do perfil de textura.

$$M_i - P_m / P_i = M_{ic}(1)$$

Em que,

Mi: Medição texturo métrica

Pm: O peso médio dos cilindros de uma amostra

Pi: Peso de cada cilindro

Mic: Medição texturométrica corrigida

A textura foi medida utilizando-se um texturomêtro TA-TX2 (Stable Micro Systems Ltd, Surrey, Inglaterra). A resistência à penetração foi medida como força necessária para que uma sonda de 4 mm de diâmetro e base plana penetrasse 5 mm no fruto. Foram fixados os seguintes parâmetros no texturômetro: velocidade pré-ensaio, 5 mm/s; velocidade de ensaio, 3 mm/s; velocidade pós ensaio, 10 mm/s; distancia de penetração, 5 mm; porcentagem de deformação, 5 mm. Avaliou-se a força necessária para deformar 50% dos pedaços de abóbora iniciais (cubos de 1,0 cm de altura e 1,0 de comprimento).

1.8.7 COR DA POLPA

A cor da abóbora foi determinada sob temperatura ambiente utilizando um colorímetro Minolta CR-400 (Konica Minolta Sensing, Inc. Osaka, Japan) / Macbeth Colour-Eye 3000 (Macbeth-Kollmorgen Inst Corp., newburg, NY, USA) o qual regula as coordenadas da cor a partir da refletância da cor. O equipamento foi programado para iluminar a D75 e ângulo de observação de 10°. Foram lidas diretamente no aparelho no modo refletância e utilizando a escala L*, a*, b* (CIELAB) em que "L*" é a luminosidade, "a*" é a intensidade de vermelho/verde e "b*" é a intensidade de amarelo/azul.

1.8.8 COEFICIENTE DE RESPIRAÇÃO

O coeficiente de respiração das amostras foi analisado segundo Soliva-Fortuny et al. (2005).

Composição interna de gases:

Uma amostra de 100g de abóbora foi envasada em bandejas plásticas seladas, e o conteúdo interno de gás foi aspirado e injetada em um Micro-GC (modelo CP 2002; Chrompack Intl., Middleburg, Holanda) para quantificação de oxigênio, dióxido de carbono e etileno. A amostra foi injetada em um CP-Molsieve 5 A° coluna (4 m x 0,32 milímetros, d.f. = 10 µm), a 55 °C e 140 kPa para determinação de oxigênio (O₂) e dióxido de carbono (CO₂) uma alíquota foi injetada em um Pora-PLOT Q coluna (10 m x 0,32 milímetros, d.f. = 10 µm) a 70 ° C e 220 kPa, para determinação de etileno. Ambas as colunas foram equipadas com um detector de condutividade térmica.

1.8.9 DETERMINAÇÃO DO CONTEÚDO TOTAL DE COMPOSTOS FENÓLICOS E FLAVONÓIDES TOTAIS.

a. Extração

Os compostos fenólicos presentes na abóbora foram extraídos com uma solução metanólica de acordo com Patras et al. (2009) com algumas modificações. Para tanto, 5 mL de metanol 80% foram adicionados a 0,5g de amostra liofilizada, a mistura foi homogeneizada por 2 min a 10200 rpm usando um homogeneizador (Ultraturrax -IKA+25digital - Germany). As amostras foram então centrifugadas por 15min a 15008 x g em centrífuga (Avanti TMJ-25, Beckman Instruments Inc., Fullerton, CA, EUA) e os sobrenadantes resultantes foram filtrados através de um filtro de papel nº 1 Whatman. Aos resíduos sólidos foram acrescentados mais 5 mL de metanol 80% e os processos de homogeneização, centrifugação e filtragem foram repetidos para completa extração dos compostos. Os extratos foram unidos e utilizados para análise de fenóis e flavonóis totais.

b. Compostos fenólicos totais

Os compostos fenólicos totais (CFT) foram determinados de acordo com Patras et al. (2009) usando o reagente Folin-Ciocalteu. Para isso, 0,5 mL de

extrato metanólico, 0,5 mL de Folin-Ciocalteu (FC) e 2,0mL de Na₂CO₃ 20% foram adicionados a um balão volumétrico, que teve seu volume completado para 25 mL com água destilada. Em seguida, as amostras foram deixadas no escuro por 60 min à temperatura ambiente. Transcorrido este período, a absorvância da amostra foi lida a 735 nm em espectrofotômetro (CECIL CE2021; Cecil Instruments Ltd., Cambridge, UK), utilizando ácido gálico (1-40 mg/l) como padrão. Os resultados foram expressos como mg de ácido gálico equivalente por 100g de peso fresco da amostra.

c. Flavonoides Totais

O conteúdo de flavonóides total das amostras foram determinados por espectrofotometria de acordo com Djariane et al. (2003), com algumas modificações. Para tanto, 1,0 mL de extrato metanólico foi homogeneizado com 1,0mL de solução metanólica de cloreto de alumínio 2%. Após a 15 min no escuro à temperatura ambiente, a absorvância foi medida em 430 nm, comum espectrofotômetro (CECIL CE2021; Cecil Instruments Ltd., Cambridge, UK) rotina foi usada para fazer a curva de calibração e os teores de flavonóides foram expressos em mg de rutina/100g de peso fresco da amostra.

1.8.10 DETERMINAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE CAROTENÓIDES TOTAIS

Os carotenóides totais foram determinados pelo método descrito por Patraset al. (2009) com pequenas modificações. As extrações foram realizadas pela adição de 10 ml de hexano: acetona (7:3) a 0,25g de amostra liofilizada, sendo homogeneizados por 2min a 10200 rpm usando um homogeinizador (Ultraturrax –IKA + 25digital - Germany). As amostras foram decantadas e filtradas através de um filtro de papel nº 1 Whatman. Ao resíduo sólido foram acrescentados mais 5 mL do dissolvente e os processos de homogeneização, decantação e filtragem foram repetidos, até amostra se tornar incolor. Os filtrados foram combinados em um funil de separação e lavados com 25 mL de água destilada. A fase aquosa foi descartada e a fase organica filtrada através de um filtro contendo Na₂SO₄ (5g). A fase organica foi transferida para um balão graduado de 25 ml e

completados o volume com hexano:acetona. A absorvância desta solução foi então determinada a 450 nm usando um espectrofotômetro (CECIL CE2021; Cecil Instruments Ltd., Cambridge, UK). Soluções padrão de β -caroteno (1g/100 mL-10g/100 ml) em hexano:acetona (7:3) foram utilizadas para fazer a construção da curva padrão. O conteúdo de carotenóides totais foi expresso como mg de β -caroteno /100g de peso fresco da amostra.

1.8.11 DETERMINAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO INDIVIDUALIZADA DOS COMPOSTOS CAROTENÓIDES MEDIANTE HPLC-DAD

O processo de extração, saponificação e quantificação de carotenos individuais ocorreu segundo metodologia descrita por Cortés et al. (2003).

a. Extração e saponificação de carotenos

Os carotenos individuais foram extraídos de uma amostra de 0,5 g de abóbora liofilizada com 0,025g de terc-butil hidroxi tolueno (BHT); 0,050 g de hidroxicarbonato de magnésio e 35 ml de etanol:hexano (4:3, v/v), esta mistura foi mantida sob agitação por 15 min em frasco âmbar e sem a presença de luz. Após a extração a amostra foi filtrada à vácuo através de um filtro de papel nº1 Whatman. O resíduo foi lavado e filtrado com 35 mL de etanol/hexano (4:3, v/v), 30 mL de etanol e 50 mL de hexano. Todos os filtrados foram combinados e lavados três vezes com 50 mL de água e duas vezes com 50 mL de NaCl 10%, alternadamente, em um funil de decantação. A fase aquosa foi descartada e a fase orgânica evaporada a 40 °C em rotaevaporador. Posteriormente a evaporação, o resíduo foi reconstituído e saponificado com 10 mL de dietil éter e 10 mL de KOH metanólico (0,5 M) com BHT 0,1% (p/v), a solução foi mantida em agitação por 35 min sob atmosfera inerte (N₂) em temperatura ambiente e protegida da luz. Ao final deste tempo foi adicionado 20 mL de dietil éter, a solução foi lavada como descrito anteriormente. Para garantir a total eliminação da água, foram adicionados à amostra 10 mL de etanol absoluto, sendo então evaporados a 45 °C. O resíduo seco foi dissolvido em 4 mL de dietil éter e colocados em um frasco de vidro âmbar, o solvente foi evaporado com N₂ e a amostra foi armazenada a -35 °C até o momento da determinação

cromatográfica, quando foi reconstituída em 1,0 mL de metanol éter metílico:terc-butil - TBME (70:30, v/v) no momento da injeção.

b. Fase móvel

Utilizaram-se como fases móveis metanol 0,1 M acetato de amônio e TBME, esse último incentiva a dissolução dos compostos mais apolares e, portanto, foi introduzido em uma pequena proporção nos primeiros minutos e sua concentração foi gradualmente aumentada para 25% nos minutos finais do cromatograma. Uma pequena porcentagem de H₂O foi adicionada durante os primeiros 10 minutos, tomando cuidado para não ter água e TBME ao mesmo tempo (para evitar a formação de pequenas borbulhas). Durante os minutos finais foram introduzidos 5% de água com metanol 95% por 3 min, e posteriormente foi adicionado metanol. O TBME foi então introduzido, e gradualmente aumentado para 25% em 15 min. Após esse tempo, sua concentração foi reduzida de modo a ter no final do cromatograma metanol 100%. A temperatura da coluna foi mantida a 30°C e as amostras a 5°C.

A Tabela 3 mostra o gradiente de fase móvel selecionado.

Tabela 3. Gradiente de fase móvel para determinação de carotenóides por HPLC

Tempo (min)	MeOH + AA ^a (%)	H ₂ O (%)	TBME (%)
0	95	5	0
3	100	0	0
5	95	0	5
10	86	0	14
15	75	0	25
22	95	0	5
23	100	0	0

^aAA 0,1 M amônio acetato

c. Condições cromatográficas

O sistema HPLC foi equipado com um controlador 600 e um detector de absorvância 717 (Waters, Milford, MA), trabalhando em 460 nm. As amostras foram introduzidas em uma coluna de fase reversa C18 Waters Spherisorb® ODS 2 (5µm) de aço inoxidável (4,6x 250 mm) através de um auto injector equipado com um loop de amostra (20 mL). A vazão foi fixada em 1,0 mL / min a 30°C. Os carotenóides foram quantificados por comparação com padrões externos de β-caroteno, α-caroteno, β-caroteno, zeaxantina, luteína e β-criptoxantina.

1.8.12 VITAMINA C

a. Extração da vitamina C

O procedimento de extração foi baseado em um método descrito por Odriozola-Serrano et al. (2007b) com algumas modificações. Uma porção de abóbora liofilizada de 0,5g para pedaços e 1,0g para os purês, foi adicionada em 10 mL de uma solução contendo 45 g/L de ácido metafosfórico e 7,2g/L de DTT (DL-1,4-Dithiothreitol). A mistura foi homogeneizada (Ultraturrax – IKA + 25 digital- Germany) por 2 min, 10200rpm em banho de gelo, sendo posteriormente centrifugada (centrifuga Avanti™ J-25, Beckman Instruments Inc., Fullerton, CA, USA) a 23450 g por 15 min a 5°C. O sobrenadante resultante foi filtrado através de um filtro de papel Whatman n.º1. A amostra foi, então, refiltrada por uma membrana Millipore de 0,45µm e congelada a -35°C até o dia da análise em HPLC.

b. Condições cromatográficas

O sistema HPLC foi equipado com um controlador 600E e um detector de absorvância 486 (Waters Milford, MA) trabalhando em 254 nm. As amostras foram introduzidas na coluna em frações de 25 µL através de um injetor manual. A vazão foi fixada em 1,0 ml / min, a temperatura ambiente. A separação do ácido ascórbico foi realizada utilizando uma coluna de fase reversa C18 Spherisorb® ODS2 (5µm) coluna de aço inoxidável (4,6 centímetros mm × 250 mm). A fase móvel foi constituída de solução de 0,01% de ácido sulfúrico (pH 2,6). A taxa de fluxo foi fixada em 1,0mL / min. Para a quantificação de ácido ascórbico da amostra construiu-se uma curva

padrão com sete níveis de calibração de ácido ascórbico (0, 2, 5, 10, 50, 100, 500 mg/L) .

1.8.13 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE TOTAL, HIDROFILICA E LIPOFILICA

A atividade antioxidante das amostras foi avaliada utilizando o método 2,2-difenil-1,1-picrilhidrazil (DPPH) de acordo com Azizah (AZIZAH et al., 2009) com pequenas modificações.

a. Determinação

A absorvância foi medida em 515nm utilizando espectrofotômetro (CECIL CE2021; Cecil Instruments Ltd., Cambridge, UK). Os resultados foram expressos em porcentagem de redução do DPPH inicial. Aplicando um teste da seguinte forma:

$$\text{DPPH (\% de inibição)} = [(A_0 - A) / A_0] \times 100$$

Em que: A_0 é a absorvância do controle em $t = 0$ min, e A_t é a absorvância do antioxidante em $t = 15$ min.

b. Atividade antioxidante total

Foram preparados extratos metanólicos de acordo com Patraset al. (2009) com algumas modificações. Foram adicionados 5 mL de metanol 80% grau HPLC a 0,5g de amostra liofilizada e homogeneizados por 2 min a 10200 rpm usando um homogeneizador (Ultraturrax -IKA+25digital - Germany). As amostras foram então centrifugadas por 10 min a 15008 x g (centrifuga Avanti TMJ-25, Beckman Instruments Inc., Fullerton, CA, EUA). O sobrenadante resultante foi filtrado através de um filtro de papel nº1 Whatman. Ao resíduo sólido foram acrescentados mais 5 mL de metanol 80% e os processos de homogeneização, centrifugação e filtragem foram repetidos para completa extração. A atividade antioxidante total foi então avaliada através da reação ocorrida numa mistura constituída por alíquotas de extrato metanólico e uma solução metanólica de DPPH após 30 min no escuro a temperatura ambiente.

c. Atividade antioxidante fração hidrofílica e lipofílica

Os antioxidantes hidrossolúveis e lipossolúveis da abóbora foram avaliados por uma após uma extração constituída de três etapas utilizando um método validado por Pinilla et al. (2005). Primeiro, 10mL de tampão fosfato 0,1 M – pH 3, foram adicionados 0,5g de amostra liofilizada e homogeneizados (Ultraturrax -IKA+25digital-Germany) 10200 rpm por 2min em banho de gelo. A mistura foi centrifugada por 15 min a 26416 x g, 5°C (Avanti TMJ-25, Beckman Instruments Inc., Fullerton, CA, EUA), o sobrenadante foi filtrado e mantido no escuro. Em seguida, o sedimento foi homogeneizado com 10 mL de tampão fosfato 0,1 M – pH 7,4 e centrifugado nas mesmas condições anteriores. O extrato aquoso foi obtido mesclando as duas porções extraídas. O extrato orgânico (lipofílico) foi obtido adicionando 10 mL de THF ao sedimento restante das extrações aquosas, a amostra foi então homogeneizada, e em seguida centrifugada a 15008 x g por 15 min a 5°C. Os sobrenadantes foram medidos separadamente com o extrato orgânico e extrato aquoso. A capacidade de eliminação do radical hidrofílico (H-RSC) e a capacidade de eliminação radical lipofílico (L-RSC) foram avaliados através da reação ocorrida numa mistura constituída por alíquotas de extrato aquoso ou extrato orgânico, e uma solução metanólica de DPPH após 30 min no escuro a temperatura ambiente.

1.8.14 PROPRIEDADES FÍSICAS

Metodologia descrita para caracterização do fruto

1.8.15 VISCOSIDADE

Realizada apenas nos purês de abóbora. Uma amostra de 40g foi introduzida em um viscosímetro rotacional (Modelo LVDV -I+, Brookfield Engineering Labs. INC. Middleboro, MA USA) equipado com sistemas de medição constituído de um cilindro coaxial, utilizando-se um sensor RV/HA/HB-7, estabeleceu-se uma velocidade de 2.0 rpm, e se tomava a leitura ao se estabilizar a viscosidade. A temperatura do sistema foi mantida a 5°C ± 2 °C utilizando um banho de gelo.

1.8.16 MICROBIOLOGIA

Para a contagem de micro-organismos aeróbios mesófilos e psicrófilos realizou-se um protocolo estabelecido segundo a norma ISO 4833 (1991) e para a contagem de fungos filamentosos e leveduras a norma ISO 7954 (1988). Em condições estereis, 10 g de pedaço abóbora minimamente processada ou 10g de purê de abóbora, foram hogeneizadas durante 2 min com 90 mL de água peptonada 0,1% utilizando uma batedora de haste para os pedaços e um agitador magnético para os purês. Em ambos os casos preparou-se um banco de diluições mesclando 0,1 mL desta solução com 0,9 mL de solução água peptonada 0,1% previamente esterelizada. Uma vez realizado o banco de diluições, foi realizado o plaqueamento em placa de petri com PCA (Palte Count Agar) para micro-organismos mesófilos e psicrófilos; e para fungos filamentosos e leveduras em placas de petri com CGA (Chloramphenicol Glucosa Agar). Em cada placa foi adicionada 0,1 mL da diluição correspondente, a qual foi espalhada com a ajuda de uma alça de Drigalski. Finalmente, as placas foram armazenadas a $30\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante três dias para a contagem dos aeróbios mesófilos, e a $5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ para os psicrófilos, e no caso fungos filamentosos e leveduras a $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 5 dias.

1.8.17 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE DOS RESULTADOS

Todos os experimentos foram realizados em duas repetições e as análises em triplicata. Empregou ferramentas estatísticas como a análise de variância para determinar a existência de diferenças significativas entre os diferentes tratamentos e, incluso, entre os efeitos de cada uma das variáveis independentes do delineamento sobre o valor da resposta utilizando um fatorial completo. Foi utilizado o ajuste de modelos de regressão e as variáveis foram comparadas por teste de média (Tukey) a um nível de 5% de probabilidade.

1.9 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

APEL, K.; HIRT, H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annual Review of Plant Biology*, v.55, p.373-399, 2004.

ARONSSON, Kristina; RONNER, Ulf e BORCH, Elisabeth. Inactivation of *Escherichia coli*, *Listeria innocua* and *Saccharomyces cerevisiae* in relation to membrane permeabilization and subsequent leakage of intracellular compounds due to pulsed electric field processing. *International Journal of Food Microbiology*. v. 99, p. 19- 32, 2005.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE HORTICULTURA – ABH. Disponível em: <<http://www.abhorticultura.com.br>> Acesso em: 27 agosto. 2010.

AOAC. *Official Methods of Analysis*. 18th. Association of Analytical Chemistry. Washington, DC.

AZEVEDO-MELEIRO, C. H.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Qualitative and Quantitative Differences in Carotenoid Composition among *Cucurbita moschata*, *Cucurbita maxima*, and *Cucurbita pepo*. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. v. 55, p. 4027-4033, 2007.

AZIZAH, A. H.; WEE, K. C.; AZIZAH, O.; AZIZAH, M. Effect of boiling and stir frying on total phenolics, carotenoids and radical scavenging activity of pumpkin (*Cucurbita moschato*). *International Food Research Journal*. v. 16, p. 45-51, 2009.

BABADOOST, M.; ZITTER, T. A. Fruit Rots of Pumpkin: A Serious Threat to the Pumpkin Industry. *Plant disease*. v. 93, p. 772-782, n. 8, 2009.

BAKER, C. J.; ORLANDI, E. W. (1995). Active oxygen in plant pathogenesis. In: GÓMEZ-GALINDO, F.; DEJMEK, P.; LUNDGREN, K.; RASMUSSEN, A. G.; VICENTE, A.; MORITZ, T. Metabolomic evaluation of pulsed electric field-induced stress on potato tissue. *Planta*. v. 230, p. 469-479, n. 230, 2009.

BALASA, A. (2007). Impact of pulses electric Weld treatment on stability and production of health related components in plant tissue. Disponível em: <http://www2.tu-berlin.de/~foodtech/pdf/balasa.pdf>. In: GÓMEZ-GALINDO, F.; DEJMEK, P.; LUNDGREN, K.; RASMUSSEN, A. G.; VICENTE, A.; MORITZ, T. Metabolomic evaluation of pulsed electric field-induced stress on potato tissue. *Planta*. v. 230, p. 469- 479, n. 230, 2009.

BARBOSA-CÁNOVAS, G. V et al. Conservación no Térmica de Alimentos. Zaragoza: Acribia, 280p. 1999.

BRITTON, G.; MÉNDEZ, D.H. 1997. Carotenoids and Colour in Fruit and Vegetables. In: ROBINS, F.A.; TOMÁS-BARBERÁN, R.J. *Phytochemistry of Fruit and Vegetables*. New York : Oxford Science Publications.

BURNS, J., GARDNER, P. T.; MATTHEWS, D.; DUTHIE, G. G.; LEAN, M. E. J.; CROZIER, ALAN. Extraction of Phenolics and Changes in Antioxidant Activity of Red Wines during Vinification. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. v. 49, p. 5797-5808, 2001.

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

CALBO, 2001. Pós-colheita de algumas hortaliças: abóbora. In: LUENGO, R. F. A.; CALBO, A. G. Armazenamento de hortaliças. Brasília: Embrapa hortaliças, 2001. 245f.

CAMPOS, L.S. 2002. Entender a Bioquímica. 3ª. Lisboa: Escolar Editora. ISBN 972-592-1275.

CEPEDA, E., VILLARAN, M.C., IBARZ, A. Rheological properties of cloudy and clarified juice of *Malus floribunda* as a function of concentration and temperature. *Journal of Texture Studies*. v. 30, p. 481-491, 1999.

CISNEROS-ZEVALLOS, L. The Use of Controlled Postharvest Abiotic Stresses as a Tool for Enhancing the Nutraceutical Content and Adding-Value of Fresh Fruits and Vegetables. *Journal of Food Science*. v. 68, n. 5, p. 1560-1565, 2003.

CONNOR, A.M., LUBY, J., TONG, C. Variation and heritability estimates for antioxidant activity, total phenolic content, and anthocyanin content in blueberry progenies. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. v. 127, p. 82-88, 2002a.

CONNOR, A.M., LUBY, J., TONG, C. Genotypic and environmental variation in antioxidant activity, total phenolic content, and anthocyanin content among blueberry cultivars. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. v. 127, p. 89-97, 2002b.

CORRALES, M., TOEPFL, S., BUTZ, P., KNORR, D., TAUSCHER, B. Extraction of anthocyanins from grape by-products assisted by ultrasonics,

high hydrostatic pressure or pulsed electric fields: A comparison. *Innovative of Food Science Emerging Technology*. v. 9, p. 85-91, 2008.

CORTES, C.; ESTEVE, M. J.; FRIÄGOLA, A.; TORREGROSA, F. Identification and Quantification of Carotenoids Including Geometrical Isomers in Fruit and Vegetable Juices by Liquid Chromatography with Ultraviolet-Diode Array Detection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. v. 52, p. 2203-2212, 2004.

COULTATE, T.P. *Alimentos: A química de seus componentes*. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 368p.

COXAM, V., DELZEME, N. E ROBERFROID, M. 2008. *Aliments fonctionnels*. 2.^a. Paris: Lavoisier.

DEMMING-ADAMS, B.; GILMORE, A.M.; ADAMS, W.W. In Vivo Functions of Carotenoids in Higher Plants. *FASEB Journal*. v. 10, p. 403-412, 1996.

DJERIDANE, A.; YOUSFI, M.; NADJEMI, B.; BOUTASSOUNA, D.; STOCKER, P.; VIDAL, N. Antioxidant activity of some algerian medicinal plant extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*. v. 97, n. 654–660, 2006.

DURMAZ, G.; ALPASLAN, M. Antioxidant properties of roasted apricot (*Prunus armeniaca* L.) kernel. *Food Chemistry*. v. 100, p. 1177–1181, 2007.

ÉAUX, B; TOLEDANO, M.B. Ros as signalling molecules: mechanisms that generate specificity in ROS homeostasis. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. v. 8, p. 813-824, 2007.

FU, C. L., TIAN, H. J., CAI, T. Y., LIU, Y. and LI, Q. H. Some properties of an acidic protein-bound polysaccharide from the fruit of pumpkin. *Food Chemistry*. v. 100, p. 944-947, 2007.

GACHOVSKA, T.K., SIMPSON, M.V., NGADI, M.O., RAGHAVAN, G.S.V. Pulsed electric field treatment of carrots before drying and rehydration. *Journal of Science Food and Agriculture*. v. 89, p. 2372-2376, 2009.

GADJEV, I.; VANDERAUWERA, S.; GECHEV, T.S.; LALOI, C.; MINKOV, I.N.; SHULAEV, V.; APEL, K.; INZE, D.; MITTLER, R.; BREUSEGEM, F.V. Transcriptomic Footprints Disclose Specificity of Reactive Oxygen Species Signaling in Arabidopsis. *Plant Physiology*. v. 141, p. 436-445, 2006.

GERSHENZON, J. (1998). Plant defenses: surface protection and secondary metabolites. En: Taiz, L., Zeiger (Eds.). Plant physiology. Sunderland, Mass., USA: The Sinauer Associates, Inc., p. 347-376.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. *Química Nova*. v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.

GÓMEZ-GALINDO, F.; SJÖHOLM, I.; RASMUSSEN, A.G.; WIDELL, S.; KAACK, K. Plant stress physiology: opportunities and challenges for the food industry. *Critical Reviews Food Science and Nutrition*. v. 46, p. 749-763, 2007.

GÓMEZ-GALINDO, F., WADSÖ, L., VICENTE, A., DEJMEK, P. Exploring metabolic responses of potato tissue induced by electric pulses. *Food Biophysics*. v. 3, p. 352-360, 2008.

GÓMEZ-GALINDO, F.; DEJMEK, P.; LUNDGREN, K.; RASMUSSEN, A.G.; VICENTE, A.; MORITZ, T. Metabolomic evaluation of pulsed electric field-induced stress on potato tissue. *Planta*. v. 230, p. 469 - 479, 2009.

GONZÁLEZ-GÓMEZ D., LOZANO M., FERNÁNDEZ-LEÓN, M.F., BERNALTE, M.J., AYUSO, M.C., RODRÍGUEZ, A.B. Sweet cherry phytochemicals: Identification and characterization by HPLC-DAD/ESI-MS in six sweet cherry cultivars grown in Valle del Jerte (Spain). *Journal of Food Composition and Analysis*. v. 23, p. 533–539, 2010.

GUDERJAN, M., TÖPFL, S., ANGERSBACH, A., KNORR, D. Impact of pulsed electric field treatment on the recovery and quality of plant oils. *Journal of Food Engineering*. v. 67, p. 281-287, 2005.

HEINZ, V., ÁLVAREZ, I., ANGERSBACH, A., KNORR, D. Preservation of liquid foods by high intensity pulsed electric fields-basic concepts for process design. *Trends Food Science Technology*. v.12, p. 103-111, 2002.

HOUNSOME, N.; HOUNSOME, B.; TOMOS, D.; Edwards-Jones, G. Plant metabolites and nutritional quality of vegetables. *Journal of Food Science*. v. 73, n. 4, p 48-65, 2008.

KALT, W., HOWELL, A., DUY, J.C., FORNEY, C.F., MCDONALD, J.E. (). Horticultural factors affecting antioxidant capacity of blueberries and other small fruit. *Hort Technology*. v. 11, p. 523-528, 2001.

KAYS, S. Postharvest physiology of perishable plant products. In: KAYS, S. (Ed.). An Avi book. New York, NY. Van Nostrand Reinhold, p. 127-128, n. 207, 1991.

KNIGHT, H.; KNIGHT, M. R. Abiotic stress signalling pathways: specificity and cross-talk. *Trends in Plant Science*. v. 6, n. 6, 2001.

KNORR, D., ANGERSBACH, A. Impact of high-intensity electric field pulses on plant membrane permeabilization. *Trends Food Science and Technology*. v. 9, p. 185-191, 1998.

KNORR, Dietrich; ANGERSBACH, Alexander; ESHTIAGHI, Mohamed N.; LEE, Volker Heinz and Dong-Un. Processing Concepts Based on High Intensity Electric Field Pulses. *Trends in Food Science & Technology*. v. 12, p. 129-135, 2001.

KOCHIAN, I., GARVIN, D. Agricultural approaches to improving phytonutrient content in plants: an overview. *Nutrition Reviews*. v. 57, p. 13-17, 1999.

KREPS, J.A.; WU, Y.; CHANG, H-S.; ZHU, T.; WANG, X.; HARPER, J. F. Transcriptome changes for Arabidopsis in response to salt, osmotic, and cold stress. *Plant Physiol*. v. 130, p. 2129- 2141, 2002.

LANDRUM, J. T. AND BONE, R. A. Lutein, zeaxanthin, and the macular pigment. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. v. 385, p. 28-40, 2001.

LEBOVKA, N.I.; BAZHAL, M.I.; VOROBIEV, E. (2001) Pulsed electric field breakage of cellular tissues: visualization of percolative Properties. In: VOROBIEV, E.; LEBOVKA, N. Enhanced Extraction from Solid Foods and Biosuspensions by Pulsed Electrical Energy. *Food Engennering Review*. v. 2, p. 95–108, 2010.

LEBOVKA, N.I.; PRAPORSCIC, I; VOROBIEV, E. Effect of moderate thermal and pulsed electric field treatments on textural properties of carrots, potatoes and apples. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. v. 5, p. 9-16, 2004b.

LEBOVKA, N.I., SHYNKARYK, N.V., VOROBIEV, E. Pulsed electric field enhanced drying of potato tissue. *Journal of FoodEngineering*. v. 78, p. 606-613, 2007.

LEBOVKA, N.I., BAZHAL, M.I., VOROBIEV, E. Estimation of characteristic damage time of food materials in pulsed-electric fields. *Journal of Food Engineering*. v. 54, p. 337-346, 2002.

LIMA, V.; MELÓ, MIS, M.; FG, P.; RS, M.; RS; LIMA, D. Total phenolic and carotenoids content in acerola genotypes harvested at three ripening stages. *Food Chemistry*. v. 90, p. 565-568, 2005.

LLORACH, R., MARTÍNEZ-SÁNCHEZ, A., TOMÁS-BARBERÁN, F.A., GIL, M.I., Ferreres, F. Characterisation of polyphenols and antioxidant properties of five lettuce varieties and escarole. *Food Chemistry*. v. 108, p. 1028-1038, 2008.

LÓPEZ, N., PUÉRTOLAS, E., CONDÓN, S., ÁLVAREZ, I., RASO, J. Application of pulsed electric fields for improving the maceration process during vinification of red wine: influence of grape variety. *European Food Research and Technology*. v. 227, p. 1099-1107, 2008a.

LÓPEZ, N., PUÉRTOLAS, E., CONDÓN, S., ÁLVAREZ, I., RASO, J. Effects of pulsed electric fields on the extraction of phenolic compounds during the fermentation of must of Tempranillo grapes. *Innovative Food Science Emerging Technology*. v. 9, p. 477-482, 2008b.

LÓPEZ, N., PUÉRTOLAS, E., CONDÓN, S., RASO, J., ALVAREZ, I. Enhancement of the extraction of betanine from red beetroot by pulsed electric fields. *Journal of Food Engineering*. v. 90, p. 60-66, 2009.

LOZANO M., VIDAL-ARAGÓN C., HERNÁNDEZ M. T., AYUSO M. C., BERNALTE M.J., GARCÍA J., VELARDO B. Physicochemical and nutritional properties and volatile constituents of six Japanese plum (*Prunus salicina Lindl.*) cultivars. *European Food Research and Technology*. v. 228, p. 403-410, 2009.

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

MÍNGUEZ-MOSQUERA, M.I.; HORNERO-MÉNDEZ, D. Separation and quantification of the carotenoid pigments in red peppers (*Capsicum annum*, L.), paprika and oleoresin by reversed-phase HPLC. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. v. 41, n. 10, p. 1616-1620, 1993.

MOLLER, I.M., JENSEN, P.E., HANSSON, A. Oxidative modifications to cellular components in plants. *Annual Review of Plant Biology*. v.58, p.459-481, 2007.

MURKOVIC, M.; MÜLLEDER, U.; NEUNTEUFL, H. Carotenoid content in different varieties of pumpkins. *Journal of Food Composition and Analysis*. v. 15, n. 6, p. 633-638, 2002.

NKONDJOCK, A., GHADIRIAN, P., JOHNSON, K. C., KREWSKI, D. Canadian Cancer Registries Epidemiology Research Group. Dietary intake of lycopene is associated with reduced pancreatic cancer risk. *Journal of Nutrition*. v. 135, p. 592-597, 2005.

OTUNOLA, Adedayo; EL-HAG, Ayman; JAYARAM, Shesha and ANDERSON William A. Effectiveness of Pulsed Electric Fields in Controlling Microbial Growth in Milk. *International Journal of Food Engineering*. v. 4, p. 10-14, 2008.

ODRIOZOLA-SERRANO, I.; HERNÁNDEZ-JOVER, T.; MARTÍN-BELLOSO, O. Comparative evaluation of UV-HPLC methods and reducing agents to determine vitamin C in fruits. *Food Chemistry*. v. 105, p. 1151–1158, 2007a.

ODRIOZOLA-SERRANO, I.; AGUILÓ-AGUAYO, I.; SOLIVA-FORTUNY, R.; GIMENO-AÑÓ, V.; MARTÍN-BELLOSO, O. Lycopene, Vitamin C, and Antioxidant Capacity of Tomato Juice as Affected by High-Intensity Pulsed Electric Fields Critical Parameters. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. v. 55, p. 9036-9042, 2007b.

PANG, C.A.; WANG, B. Oxidative Stress and Salt Tolerance in Plants. *Progress in Botany*, v. 69, p. 231-246, 2008.

PATRAS, A.; BRUNTON, N.; PIEVE, S.; BUTLER, F.; DOWNEY, G. Effect of thermal and high pressure processing on antioxidant activity and instrumental colour of tomato and carrot purées. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. v. 10, p. 16–22, 2009.

PETIT, B. et al. Nouveaux Treatments Physiques de Conservation des Aliments: Revue Bibliographique. *Revue de Médecine Vétérinaire*, v. 153, n. 8-9, p. 547-556, 2002.

PINEDA D., SALUCCI M., LÁZARO R., MAIANI G., FERRO LUZZI A. Capacidad antioxidante y potencial de sinergismo entre los principales constituyentes antioxidantes de algunos alimentos. *Revista Cubana Alimentación y Nutrición*. v. 13, n. 2, p. 104-111, 1999.

PINILLA, M. J.; PLAZA, L.; SÁNCHEZ-MORENO, C.; DE ANCOS, B.; M.; CANO, P. Hydrophilic and Lipophilic Antioxidant Capacities of Commercial

MediterraneanVegetable Soups (Gazpachos). Sensory and Nutritive Qualities of Food. v. 70, n. 1, 2005.

PUSHMANN, R; SILVA, E. de O.; CARNELOSSI, M. A. G.; TELES, C. S. Processamento mínimo de hortaliças. Viçosa: s. ed. Janeiro, 2002. 5p.

RADETSKI, C.M., COTELLE, S., FÉRARD, J.F. Classical and biochemical endpoints in the evaluation of phytotoxic effects caused by the herbicide trichloroacetate. *Environmental and Experimental Botany*, v. 44, p.221-229, 2000.

RAMOS, A.M.;TEIXEIRA, L.J.Q.; STRINGHETA, P.C.; CHAVES, J.B.P.; GOMES, J.C. Aplicação de campos elétricos pulsados de alta intensidade na conservação de alimentos. *Revista Ceres*, v. 53, n. 308, p. 425-438, 2006.

RIZHSKY, L.; LIANG, H.; SHUMAN, J.; SHULAEV, V.; DAVLETOVA, S.; MITTLER, R. When defense pathways collide: the response of Arabidopsis to a combination of drought and heat stress. *Plant Physiology*. v. 134, p. 1683 - 1696, 2004.

RUIZ, D., EGEA, J., GIL, M.I., TOMÁS-BARBERÁN, F.A. Characterization and quantification of phenolic compounds in new apricot (*Prunus armeniaca* L.) varieties. *Journal of Agriculture Food Chemistry*. v. 53, p. 9544-9552, 2005.

SABRI, N.; PELISSIER, B.; TEISSIÉ, J. Electroporation of intact maize cells induces an oxidative stress. *European Journal of Biochemistry*. v. 238, p. 737- 743, 1996.

SALTVEIT, M. (1997). Physical and physiological changes in minimally processed fruits and vegetables. In: Tomas-Barberan, F., Robins, R. (Eds.). *Phytochemistry of fruit and vegetables*. New York, NY. Oxford University Press Inc., p. 205-220.

SALTVEIT, M.E. 2000. Fresh-cut Product Biology. *Fresh-cut Products: Maintaining Quality and Safety*. University of California, Davis, US : s.n., 6th Annual Workshop on Fresh-cut Products.

SÁNCHEZ-MORENO, C.; DE ANCOS, B.; PLAZA, L.; ELEZ-MARTÍNEZ, P.; CANO, M.P. Nutritional approaches and health-related properties of plant foods processed by high pressure and pulsed electric fields. *Critical Reviews Food Science Nutrition*. v. 49, p. 552-576, 2009.

SCALBERT, A.; JOHNSON, I. T.; SALTMARSH, M. Polyphenols: Antioxidants and beyond. *American Journal of Clinical Nutrition*. v. 81, p. 215-217, 2005.

SCHILLIG, S.; TOEPFL, S., LUDWIG, M., DIETRICH, H., KNORR, D., NEIDHART, S., SCHIEBER, A., REINHOLD, C. Comparative study of juice production by pulsed electric field treatment and enzymatic maceration of apple mas. *Europe Food Research and Technology*. v. 226, p. 1389-1398, 2008.

SCHREINER, M., HUYSKENS-KEIL, S. Phytochemicals in fruit and vegetables: health promotion and postharvest elicitors. *Critical Review Plant Science*. v. 25, p. 267-278, 2006.

SERRANO, M.; GUILLEN, F.; MARTÍNEZ-ROMERO, D.; CASTILLO, S.; VALERO, D. Chemical constituents and antioxidant activity of sweet cherry at different ripening stages. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*.v.53, p. 2741-2745, 2005.

SHAHIDI, F. Functional foods: their role in health promotion and disease prevention. *Journal of Food Science*. v. 69, n.5, p. 146-149, 2004.

SHOHAEL, A. M.; ALI, M. B.; YU, K. W.; HAHN, E. J.; ISLAM, R.; PAEK, K. Effect of light on oxidative stress, secondary metabolites and induction of antioxidant enzymes in *Eleutherococcus senticosus* somatic embryos in bioreactor. *Process Biochemistry*. v. 41, p. 1179- 1185, 2006.

SOARES, S.E. Ácidos Fenólicos como Antioxidantes. *Revista de Nutrição*.v. 15, n. 1, p. 71-81, 2002.

SOLIVA-FORTUNY, R.C., GRIGELMO-MIGUEL, N., HERNANDO, I., LLUCH, M.A., MARTÍN-BELLOSO, O. Effect of minimal processing on the textural and structural properties of fresh-cut pears.*Journal of Science Food Agriculture*.v. 82, p. 1682-1688, 2002.

SOLIVA-FORTUNY, R.C., LLUCH, M.A., QUILES, A., GRIGELMO-MIGUEL, N., MARTÍN-BELLOSO, O. Evaluation of textural properties and microstructure during storage of minimally processed apples.*Journal of Food Science*.v. 68, p. 312-317, 2003.

SOLIVA-FORTUNY, R.C.; RICART-COLL, M.; MARTÍN-BELLOSO, O. Sensory quality and internal atmosphere of fresh-cut Goldel Delicious apples.*Journal of Food Science and Technology*. v. 40, p. 369-375, 2005.

SOLIVA-FORTUNY, R. et al. Effects of pulsed electric fields on bioactive compounds in foods: A review. Trends in Food Science & Technology. Article in press. v. 20, p. 544-556.

SUN, B. et al. Protective effect of nitric oxide on iron deficiency-induced oxidative stress in maize (*Zea mays*). Journal of Plant Biology, v.164, p.536-543, 2007.

SOUZA, P. H. M.; SOUZA NETO, M. H.; MAIA, G. A. Componentes funcionais nos alimentos. Boletim da SBCTA. v. 37, n. 2, p. 127-135, 2003.

VALLEJO, F.; TOMÁS-BARBERÁN, F.A.; GARCÍA-VIGUERA, C. Effect of climatic and sulphur fertilisation conditions on phenolic compounds and vitamin C, in the inflorescences of eight broccoli cultivars. European Food Research and Technology. v. 216, p. 395-401, 2003a.

VALLEJO, F.; TOMÁS-BARBERÁN, F.A.; GONZALEZ BENAVENTE-GARCÍA, A.; GARCÍA-VIGUERA, C. Total and individual glucosinolate contents in inflorescences of eight broccoli cultivars under various climatic and fertilisation conditions. Journal of Science and Food Agriculture. v. 83, p. 307-313, 2003b.

VOROBIEV, E.; LEBOVKA, N. Enhanced Extraction from Solid Foods and Biosuspensions by Pulsed Electrical Energy. Food Engineering Review. v. 2, p. 95-108, 2010.

WAN, J. et al. Advances in innovative processing technologies for microbial inactivation and enhancement of food safety e pulsed electric field and low-temperature plasma. Trends in Food Science & Technology. v. 20, p. 414 - 424, 2009.

WETTASINGHE, M.; SHAHIDI, F. Evening primrose meal: A source of natural antioxidants and scavenger of hydrogen peroxide and oxygen-derived free radicals. Journal of Agricultural and Food Chemistry. v. 47, n. 5, p. 1801-1812, 1999.

YE, H.; HUANG, L.L.; CHEN, S.D.; ZHONG, J.J. Pulsed electric field stimulates plant secondary metabolism in suspension cultures of *Taxus chinensis*. Biotechnology Bioengineering. v. 88, p. 788- 795, 2004.

ZHU, C.; NAQVI, S.; GOMEZ-GALERA, S.; PELACHO, A.M.; CAPELL, T.; CHRISTOU, P. Transgenic strategies for the nutritional enhancement of plants. Trend Plants Science. v. 12, p. 548-555, 2007.

ZHANG, Q. H.; G. V.; SWANSON, B. G. Engineering Aspects of Pulsed Electric Field Pasteurization. Journal of food Engennering. v. 25, p. 261-291, 1995.

2 ARTIGOS

2.1 ARTIGO 1 - Effects of pulsed electric fields on the bioactive compound content and antioxidant capacity of pumpkin stored at different temperatures

ABSTRACT

Moderate intensity pulsed electric fields (MIPEF) can affect the metabolism of fruits, therefore stimulating the production of bioactive compounds. The effects of MIPEF on the bioactive compounds (total polyphenol, total carotenoid content, and vitamin C content) and on total antioxidants capacity of pumpkin pieces stored at different temperatures were analyzed, both on the day of processing and throughout the storage period. Pumpkin pieces were treated with electric fields of 0.4 kV/cm or 2.0 kV/cm and 30 pulses, and stored at 5, 15 or 25 °C for 6 days. The samples subjected to 0.4 kV/cm and stored at 25 °C for 4 days incremented total polyphenol content by 300% ($p < 0.05$) in relation to their initial content. Results demonstrate that the samples treated to 0.4 kV/cm had smaller reductions in vitamin C compared to untreated samples and samples subjected to 2.0 kV/cm. After applying 2.0 kV/cm, the total carotenoid content increased by 27% and the antioxidant capacity improved by 15% when stored at 5°C. MIPEF can be used in post-harvest pumpkin to increase nutritive compound content and antioxidant activity, leading to more nutritious pumpkin and pumpkin derivatives.

Keywords: Bioactive compounds, Antioxidant capacity, Pumpkin, Pulsed electric fields

1. Introduction

The increasing consumer interest for highly nutritious see mingly fresh food products has promoted the investigation of consumed foods and their health benefits. Epidemiological studies correlate a healthy and balanced diet, based on fruits and vegetables, with lower predisposition to

degenerative diseases and tissue aging (Kris-Etherton et al., 2002). Many of these diseases are caused by the build-up of free radicals in the body, which can cause oxidative damages to proteins, lipids, nucleic acids and cell membranes (Ames et al., 1993).

The protective effect of fruits and vegetables has been attributed to compounds with antioxidant activity, also known as bioactive compounds (Silva et al., 2010). These antioxidants block the damaging effects of free radicals by neutralizing their actions, and protect people (Appel et al., 1997). These compounds are defined as non-nutritive but essential substances for the body, since they have a positive effect on health (Kris-Etherton et al., 2002). Bioactive compounds include carotenoids, phenolic compounds, vitamins, hormones, and others (Hounsome et al., 2008).

Pumpkin (*Cucurbita moschata*) is an annual herbaceous plant from the Cucurbitaceae family. It is one of the most economically important fruits in the traditional agricultural systems in the world. It contains minerals, vitamin C, carotenoids (Gwanama et al., 2001) and phenolic compounds. In recent years, researchers have explored potential medicinal uses for pumpkins, attention due to their high nutritional value and health benefits (Li et al., 2010).

High intensity pulsed electric fields have been proposed as an alternative to conventional food preservation techniques. The use of this technique at very high field strength causes irreversible cell rupture and is used for food conservation by inactivating microorganisms and enzymes (Vorobiev and Lebovka, 2010). Pulsed electric field technologies are currently being developed and are already being used in other applications. Moderate intensity pulsed electric fields (MIPEF) may cause lethal damage to cells or induce sublethal stress by permeabilizing tissue structures, thus improving extraction of intracellular compounds of vegetable tissues, obtaining oils, juices, specific compounds (Soliva-Fortuny et al. 2009; Corrales et al., 2008; López et al., 2008ab, 2009; Schillig et al., 2008), intracellular metabolite extraction (Soliva-Fortuny et al. 2009; Ade-Omowaye et al., 2003) and enhancing drying efficiency (Gomez-Galindo et al., 2007, Gachovska et al., 2009). Recent studies have also suggested the possibility of using MIPEF to stress cells and thus stimulate biosynthesis of secondary

metabolites (Toepfl et al; 2006). MIPEF affect the metabolism of vegetables by generating reactive oxygen species (ROS) (Gomez-Galindo et al., 2008; 2009). ROS are endogenous signal components required for the synthesis of secondary metabolites such as polyphenols or carotenoids, which are known to be part of plants' response to stress (Gueven and Knorr, 2011).

Stress has been proposed as a way to increase antioxidant levels in plant tissues in preharvest (Atkinson et al., 2005) and postharvest (Schreiner and Huyskens-keil, 2006). MIPEF affects plant metabolism by causing an oxidative burst with the generation of reactive oxygen species (ROS) (Sabri et al., 1996), and consequently stimulates the production of secondary metabolites. The production of secondary metabolites stimulated by MIPEF was reported in vegetable cellular cultivation (Gueven and Knorr, 2011) and more recently in vegetable tissues (Gómez-Galindo et al., 2009). However, to our knowledge the impact of pulsed electric fields on the postharvest physiology of fruits and vegetables is not known. In this work, we studied the effect of MIPEF on total phenolic, vitamin C and total carotenoid contents as well as antioxidant capacity of pumpkin pieces stored at different temperatures.

2. Materials and methods

2.1 Pumpkin

Butternut pumpkins (*Cucurbita moschata* Duchesne ex Poiret) were bought at the Central Fruit and Vegetable Market in Lleida (Spain) at commercial maturity. The fruits were transported to the University of Lleida (Spain) and stored at a temperature of 14 ± 1 °C.

The pumpkin pieces were obtained from whole fruits and without apparent skin damage. They were washed and sanitized for 5 min in a 200 ppm chlorine solution. The seeds were removed and the pumpkins were cut into small pieces of $35 \text{ g} \pm 5 \text{ g}$.

2.2 Pulsed electric field Processing and storage

MIPEF Processing. MIPEF treatments were conducted in bath equipment manufactured by Physics International (San Leandro, CA, USA), which can

deliver pulses from a capacitor of 0.1 μF with an exponential decaying waveform. A stainless steel parallel plate treatment chamber was used. A batch of pumpkin pieces was placed in the treatment chamber filled with tap water. Pumpkin pieces were treated at 0.4 or 2.0 kV/cm using 30 monopolar pulses of 4 μs at a frequency of 0.1 Hz. Each treatment was repeated twice. Pumpkin pieces without MIPEF treatment were used as control (untreated samples). MIPEF-treated and untreated pumpkin pieces were transferred to plastic trays and stored at different temperatures (5, 15 or 25 $^{\circ}\text{C}$) for six days. Samples were analyzed after processing (day 0), then after 1, 2, 3, 4, 5 and 6 days of storage. Until analyses, the samples were lyophilized.

2.3 Total phenolic content (TPC)

The method described by Patras et al. (2009) was used with some modifications for the extraction of total phenolic content. Methanolic extracts were prepared by adding 5 ml of methanol 80% to 0.5 g of freeze dried powder sample and homogenizing for 2 min at 10,200 rpm in an ice bath (Ultraturrax -IKA+25digital - Germany). The samples were then centrifuged for 15 min at 10,000 rpm at 5 $^{\circ}\text{C}$ (Centrifuge Avanti TMJ-25, Beckman Instruments Inc., Fullerton, CA, USA). The supernatant was filtered through a Whatman filter paper. The solid residue was homogenized in 5 mL of methanol 80%, centrifuged and filtered as described previously. The filtered extracts were homogenized and used in the analysis of TPC and antioxidant activity.

The TPCs were determined using the Folin-Ciocalteu reagent according to the method of Patras et al. (2009). In a volumetric balloon, 0.5 mL of methanolic extract, 0.5 mL of Folin-Ciocalteu (FC) and 2.0 mL of 20% Na_2CO_3 were quickly added together, and the volume was topped to 25 mL with distilled water. The volumetric balloon was then left in the dark for 60 min at room temperature. Sample absorbance was read at 735 nm in a spectrophotometer (CECIL CE2021; Cecil Instruments Ltd., Cambridge, UK), using aqueous gallic acid (1-40 mg/L) as standard. Results were expressed as mg of gallic acid equivalent by 100g of fresh weight sample.

2.4 Vitamin C content

Vitamin C content was determined by HPLC. The extraction procedure was conducted in accordance with the validated method proposed by Odriozola-Serrano et al. (2007). A sample of 0.5 g freeze-dried powder was mixed with 10 mL of a solution containing 4.5% w/v metaphosphoric acid and 0.72% w/v DTT. The mixture was homogenized for 2 min at 10,200 rpm in an ice bath (Ultraturrax – IKA + 25 digital - Germany), and centrifuged at 12,500 rpm for 15 min at 4 °C (Centrifuge Avanti J-25, Beckman Instruments Inc., Fullerton, CA), and the supernatant was filtered through a Whatman filter paper. The samples were filtered with a Millipore 0.45 µm membrane and stored at -40 °C until the time of analysis. An aliquot of 50 µL was injected into an HPLC system equipped with a reverse-phase C18 Spherisorb® ODS2 (5 µm) stainless steel column (4.6 mm x 250 mm) and an isocratic mobile phase consisting of Milli-Q water adjusted to pH 2.6 with a 0.01% sulfuric acid solution flowing at 1 mL/min. The vitamin C detection was carried out with a 486 absorbance detector (Waters, Milford, MA) working at 254 nm. A calibration curve (0 - 500 mg / L) with ascorbic acid (Scharlau Chemie, S.A., Barcelona, Spain) was built for vitamin C quantification, and results were expressed as mg of ascorbic acid per 100 g of fresh weight sample.

2.5 Total carotenoid content (TCC)

Total carotenoid content was determined using a modified method described by Patraset al. (2009). Extractions were carried out using 10 ml of hexane:acetone (7:3) and 0.25 g of freeze dried sample homogenized for 2 min at 10,200 rpm in an ice bath (Ultraturrax -IKA+25digital - Germany). The samples were then centrifuged for 15 min at 10,000 rpm at 5 °C (Centrifuge Avanti TMJ-25, Beckman Instruments Inc., Fullerton, CA, USA). The supernatant was filtered through a Whatman filter paper. The samples were decanted and the supernatant was filtered again through a Whatman filter paper. The residue was re-extracted until it became colourless. The filtrates were combined in a separatory funnel and washed with 25 mL distilled water. The water phase was discarded and Na₂SO₄ (5 g) was added as a desiccant. The hexane:acetone (7:3) phase was transferred to a 25 mL volumetric flask

and brought to volume with hexane:acetone (7:3). The absorbance of this solution was then determined at 450 nm using a UV–Vis spectrophotometer (CECIL CE2021; Cecil Instruments Ltd., Cambridge, UK). External calibration with β -carotene standard solutions (1 - 10 g/100 ml) in hexane:acetone (7:3) was used to quantify carotenoids in the solutions. Carotenoid content was expressed as mg of β -carotene/ 100 g fresh weight of sample.

2.6 Total antioxidant capacity

The antioxidant capacity of pumpkin was studied through the evaluation of the free radical-scavenging effect on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical (DPPH) according to Patras et al. (2009) with some modifications. An aliquot of 1.0 mL of methanolic extract was mixed with 4.0 mL of methanolic DPPH (0.025 g/L). The homogenate was mixed by inversion and kept in darkness for 30 min at room temperature. Absorbance of the samples was measured with a spectrophotometer at 515 nm (CECIL CE2021; Cecil Instruments Ltd., Cambridge, UK) against a blank of methanol without DPPH. Results were expressed as percentage of inhibition of the radical DPPH, which can be related to the decrease in absorbance with respect to the control value (DPPH initial absorption value).

2.7 Statistical analysis

The different treatments applied to the pumpkin pieces, which varied the electric field strength and the storage temperature, were conducted in duplicate, and each analysis was performed four times (total phenolic content, vitamin C, total carotenoid content and antioxidant activity). The analysis of variance (ANOVA) was done using the statistical analysis system JMP® 8.0.1 (SAS Institute Inc, Cary, NC, USA) to assess the effect of different parameters, electric field strength, time and storage temperature, on the nutritive compounds (total phenolic contents, vitamin C, total carotenoid content) and antioxidant activity. The Tukey test ($p < 0.05$) was applied to compare the average values obtained. For quantitative factor (time) were adjusted regression models. Relative values of nutritive compound concentration and antioxidant capacity were defined as the contents of eac

nutritive compound or antioxidant capacity on the day of analysis divided by the content on day zero (initial content)

3. Results and discussion

3.1 Effect of MIPEF on total phenolic content (TPC)

The TPC of untreated pumpkin was 30.66 ± 0.15 mg / 100g of total phenolic content, which was consistent with values reported in the literature (Nawirska-Olszńska et al., 2011).

The variation of TPC in pumpkin pieces subjected to different electric field strength throughout the storage period at different temperatures is presented in Figure 1. The results show that TPC of pumpkin depended significantly ($p < 0.05$) of the condition of the MIPEF treatment, as well as the storage temperature and time. The regression equations are presented in Table 1.

Table 1. Equations of properties adjusted total phenols, flavonols, vitamin C and antioxidant capacity, and treatment for different coefficients of determination.

Property	Treatment	Adjusted equations/R ²
Phenolic content	C 5	$y = -0,0032x^4 + 0,0375x^3 - 0,1243x^2 + 0,0898x + 1,0034 / R^2 = 0,78$
	T1 5	$y = -0,0139x^4 + 0,1182x^3 - 0,2143x^2 - 0,0436x + 0,9927 / R^2 = 0,99$
	T2 5	$y = 0,0024x^4 - 0,0222x^3 + 0,0302x^2 + 0,1038x + 0,9834 / R^2 = 0,71$
	C 15	$y = -0,0501x^4 + 0,5061x^3 - 1,6254x^2 + 1,8544x + 1,0227 / R^2 = 0,80$
	T1 15	$y = -0,0299x^4 + 0,3074x^3 - 0,993x^2 + 1,1267x + 1,0196 / R^2 = 0,73$
	T2 15	$y = -0,0193x^4 + 0,1933x^3 - 0,5862x^2 + 0,4897x + 1,0146 / R^2 = 0,43$
	C 25	$y = -0,0943x^3 + 0,6619x^2 - 1,1386x + 0,9908 / R^2 = 0,98$
	T1 25	$0,0847x^3 + 0,3792x^2 + 0,3674x + 0,9501 / R^2 = 0,96$
	T2 25	$y = -0,0806x^2 + 0,094x + 1 / R^2 = 1$
Vitamin C	C 5	$y = -0,0806x + 1,0076 / R^2 = 0,97$
	T1 5	$y = -0,116x + 1,0084 / R^2 = 0,97$
	T2 5	$y = -0,1258x + 0,8156 / R^2 = 0,85$
	C 15	$y = -0,0572x + 1,0146 / R^2 = 0,88$
	T1 15	$y = -0,04x + 0,9337 / R^2 = 0,71$
	T2 15	$y = -0,1163x + 0,8957 / R^2 = 0,90$
	C 25	$y = -0,1387x + 0,9084 / R^2 = 0,87$
	T1 25	$y = -0,1172x + 0,9185 / R^2 = 0,87$
T2 25	$y = -0,4398x + 1,0266 / R^2 = 0,99$	
Carotenoid	C 5	$y = -0,0039x^4 + 0,0529x^3 - 0,2023x^2 + 0,2145x + 1,0109 / R^2 = 0,76$
	T1 5	$y = -0,0043x^4 + 0,048x^3 - 0,126x^2 - 0,0301x + 0,9872 / R^2 = 0,82$
	T2 5	$y = 0,0054x^4 - 0,0184x^3 - 0,1266x^2 + 0,3638x + 0,987 / R^2 = 0,86$
	C 15	$y = 0,0388x^4 - 0,3864x^3 + 1,1175x^2 - 0,8645x + 1,0047 / R^2 = 0,99$
	T1 15	$y = -0,0023x^4 - 0,0054x^3 + 0,1778x^2 - 0,5687x + 0,9989 / R^2 = 0,99$
	T2 15	$y = 0,033x^4 - 0,3594x^3 + 1,2477x^2 - 1,4821x + 1,0094 / R^2 = 0,91$
	C 25	$y = 0,1228x^3 - 0,9662x^2 + 2,0279x + 0,9865 / R^2 = 0,99$
	T1 25	$y = -0,0233x^3 + 0,1515x^2 - 0,3053x + 1,0024 / R^2 = 0,99$
T2 25	$y = 0,3103x^2 - 0,6919x + 1 / R^2 = 1$	
Antioxidant capacity	C 5	$y = 0,0078x^4 - 0,0908x^3 + 0,3118x^2 - 0,2765x + 1,013 / R^2 = 0,74$
	T1 5	$y = -0,0054x^5 + 0,0761x^4 - 0,3628x^3 + 0,6533x^2 - 0,3343x + 1,0033 / R^2 = 0,83$
	T2 5	$y = -0,0046x^4 + 0,0692x^3 - 0,3257x^2 + 0,4457x + 0,9929 / R^2 = 0,79$
	C 15	$y = 0,0067x^4 - 0,073x^3 + 0,252x^2 - 0,2694x + 0,9988 / R^2 = 0,96$
	C 25	$y = -0,0017x^3 + 0,0141x^2 - 0,0407x + 1,0024 / R^2 = 0,77$

C = Untreated Sample; T1 = 0.4 kV/cm – 30 pulses; T2 = 2.0 kV/cm – 30 pulses; 5 = 5 °C; 15 = 15; °C; 25 = 25 °C.

The TPC increased in the samples processed with 0.4 kV / cm and stored at 5 °C after the fourth day of storage. On the fifth day of storage we observed a statistically significant increment ($p < 0.05$) of 53 % in relation to the initial content. This was the maximum TPC observed for the samples stored at 5 °C (Figure 1). The TPC in the untreated sample also increased, but was statistically lower ($p < 0.05$) than that observed in the MIPEF-treated

sample. The time was not significant in the TPC in the untreated sample. This result demonstrated that the MIPEF application of 0.4 kV/cm was efficient in producing pumpkin pieces with 53 % more TPC than the untreated pieces after four days of storage.

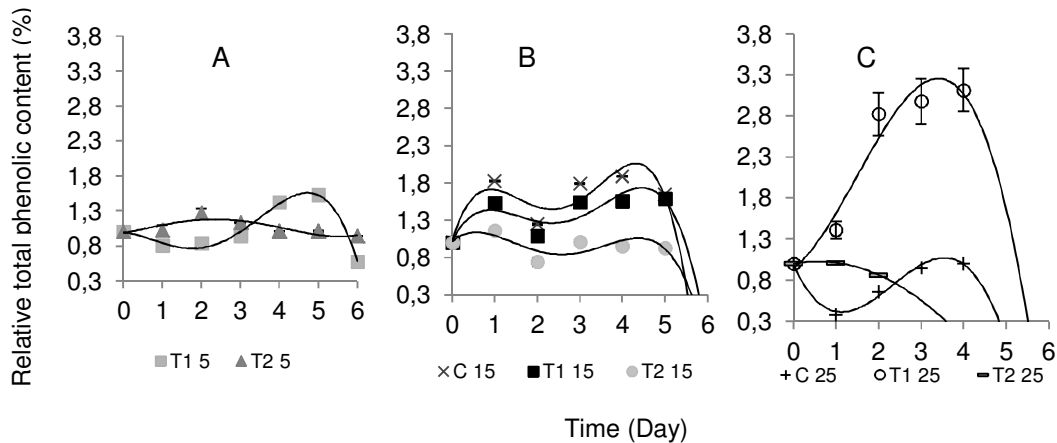


Figure 1. Relative values of total phenolic content of pumpkin pieces subjected to a pulsed electric field and stored at different temperatures. Data shown are the mean \pm standard deviation (n = 8).

C = Untreated Sample; T1 = 0.4 kV/cm – 30 pulses; T2 = 2.0 kV/cm – 30 pulses; 5 = 5 °C; 15 = 15 °C; 25 = 25 °C; A = 5 °C; B = 15 °C; C = 25 °C

In comparison to the initial content of TPC in the samples treated with 2.0 kV/cm and stored at 5 °C, there was a 28 % increase of this compound on the second day of storage (Figure 1), being statistically similar ($p > 0.05$) to the content present in the untreated samples on the fourth day of storage. Therefore, the results showed that the MIPEF and 5 °C temperature promoted a faster or more intense response in the production of TPC than the untreated samples.

The maximum TPC in the samples stored at 15 °C was observed in the untreated samples on the fourth day of storage (Figure 1), as this compound increased 88 % in relation to the initial content. The highest content was presented in the untreated sample, followed by the samples subjected to 0.4 kV/cm and 2.0 kV/cm. These results may be explained either by the fact that the treatments applied to the pumpkin combined with a storage temperature of 15 °C would have been insufficient to stimulate the synthesis pathways of phenolic compounds, or that the TPC neutralized the

free radicals. At 15 °C the analyses were limited to five days due to the appearance of microorganisms in the samples, the result of contamination that occurred during processing.

In the samples processed with 0.4 kV/cm and stored at 25 °C, TPC increased 300 % in relation to the initial content after four days of storage (Figure 1). This value was statistically ($p < 0.05$) greater than the untreated sample. These results are in accordance with Gueven and Knorr (2011), as these authors confirmed the efficiency of the MIPEF application as an inducer of secondary metabolism pathways, inducing the synthesis of isoflavones in cultures of soy cells. This accumulation has been shown to result from wound-induced synthesis of phenylalanine ammonia-lyase (PAL) (Howard and Griffin, 1993). It is possible that MIPEF induced stress and increased PAL activity, thus enhancing TPC. However, in the untreated samples and those subjected to 2.0 kV/cm and stored at 25 °C, TPC was reduced.

The treatment of 2.0 kV/cm combined with a temperature of 25 °C was enough to stimulate the pathways of TPC synthesis, but it may also cause irreversible damage to pumpkin tissue. Plants activate their defense pathways at different intensities of electric fields, which are applied to cause sub-lethal damage to their cells. Depending on cellular properties (e.g. size, conductivity, shape and orientation) and the treatment parameters (the number of pulses, electric field strength and time of treatment) the processing may cause irreversible damage if there cell viability is altered, or reversible if no alteration occurs (Gomez-Galindo et al., 2008), leading to a reduction in TPC. At 25 °C the analyses were limited to 2 and 4 days due to the appearance of microorganisms in the samples, the result of contamination that occurred during processing.

MIPEF can affect metabolism through the induction of an oxidative explosion that generates reactive oxygen species (ROS), which include superoxide (O_2^-), hydrogen peroxide (H_2O_2) and hydroxyl radical ($-OH$) (Gomez-Galindo et al., 2007). The appearance of free radicals in the plant tissues enables the activation of the secondary metabolism pathways which enable synthesis of compounds with antioxidant properties to neutralize these radicals, e.g. phenolic compounds. Therefore, since the samples

subjected to MIPEF suffer greater damage than the untreated ones, the use of phenolic compounds to neutralize the free radicals will also be higher.

The accumulation of phenolics can enhance phytochemicals of carrot sticks (Simões et al., 2009). Additionally, Cisneros-Zevallos (2003) proposed the use of controlled abiotic stresses, such as wounding, as a tool to enhance phytochemical content of carrots by inducing synthesis / accumulation of phenolic compounds. However, phenolic compounds have been linked to the increased perception of bitter and sour taste in carrots (Kreutzmann et al., 2008).

These results confirm that the MIPEF can affect the metabolism of fruits and vegetables, and therefore stimulate the production of bioactive compounds (Gomez-Galindo et al., 2007). The observed accumulation of phenolic compounds is of interest as it contributes to the overall total antioxidant activity.

3.2 Vitamin C content

Butternut pumpkin has a low concentration of vitamin C, which varies from 9 - 10mg / 100g (Nawirska et al., 2009). In this study the vitamin C content varied from 2.01 – 4.38 mg / 100g in untreated samples. Vitamin C content in the pumpkin pieces subjected to different intensities of electric field throughout the storage period at different temperatures is shown in Figure 2, with this compound decreasing in all of the samples during the storage period. The regression equations are presented in Table 1.

The electric field strength and storage temperature significantly influenced ($p < 0.05$) the losses. Losses of vitamin C can be explained by this vitamin being very sensitive to light, oxygen, temperature, pH and degrading enzymes (Gregory, 1996). Vitamin C is also highly sensitive to any type of stress (Davey et al., 2000). Therefore, the MIPEF treatment and the cut processing could cause losses in vitamin C content.

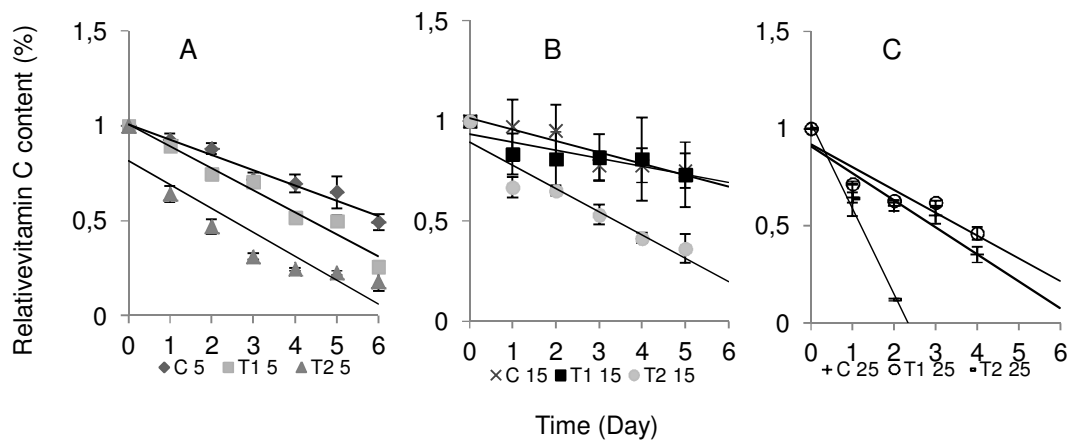


Figure 2. Relative values of vitamin C content of pumpkin pieces subjected to a pulsed electric field and stored at different temperatures. Data shown are the mean \pm standard deviation ($n = 8$).

C = Untreated Sample; T1 = 0.4 kV/cm – 30 pulses; T2 = 2.0 kV/cm – 30 pulses; 5 = 5 °C; 15 = 15 °C; 25 = 25 °C; A = 5 °C; B = 15 °C; C = 25 °C

Samples subjected to 2.0 kV/cm presented a decrease in vitamin C content throughout the storage period, relative to the initial content. The reduction was larger when the sample was stored at 25 °C (Figure 2). Vitamin C usually decreases in other fruits and vegetables stored at 4 °C, e.g. in recently harvested carrots (Simões et al., 2009). The loss of ascorbic acid can occur for a number of reasons. Levels of the enzyme ascorbate oxidase, which oxidases ascorbic acid to dehydroascorbic acid (in the presence of molecular oxygen), increase under stress conditions, promoting the conversion of ascorbic acid to dehydroascorbic acid (Lee and Kader, 2000). In addition, ascorbic acid is converted to dehydroascorbic acid when polyphenoloxidase (PPO) activity is increased (Kenny and Beirne, 2010).

When the samples were treated with 0.4 kV/cm, the vitamin C content was reduced in relation to the initial content. The losses were observed at all storage temperatures (5, 15 and 25 °C) (Figure 2). The losses in those samples were smaller than the samples subjected to 2.0 kV/cm ($p < 0.05$).

The treatment with MIPEF is a form of stress, and thereby triggers biological responses in plants such as stimulating the synthesis of some components, and the activation of defense mechanisms. The plants possess mechanisms to protect the cell and sub-cellular structures from the effects of ROS using enzymatic and non-enzymatic systems, which are found in

different organelles like chloroplasts, mitochondria and peroxisomes (Pang and Wang, 2008). The non-enzymatic antioxidant systems include glutathione, ascorbic acid (vitamin C) and the phenolic compounds. Therefore, the MIPEF can cause loss of vitamin C because this compound is used for cellular defense against damage caused by free radicals.

The results demonstrate that treatment with MIPEF at 0.4 kV/cm did not have a deleterious effect on vitamin C content compared to the untreated sample with non-significant changes ($p > 0.05$), and showed smaller reductions compared to the samples subjected to 2.0 kV/cm ($p < 0.05$).

3.3 Total carotenoid content (TCC)

In this study, we found 140.66 – 170.0 mg/100 g of total carotenoid content in untreated pumpkin pieces. The total carotenoid content changed depending on the variety of pumpkin (Murkovic et al., 2002). The TCC in pumpkin pieces subjected to different electric field strength throughout the storage period at different temperatures is illustrated in Figure 3. The regression equations are presented in Table 1.

In the samples subjected to 0.4 kV/cm, TCC increased ($p < 0.05$) by 11% in relation to the initial content after four days of storage at 5 °C (Figure 3). However, in the samples treated at 2.0 kV/cm, TCC was 27% higher than the initial content on the first day of storage at that temperature. This suggests that the TCC increase is proportional to the applied stress, i.e. a more intense electric field promoted a higher and faster increase of these compounds. Navaro et al. (2010) observed an increase in TCC in mandarins subjected to water deficit, another stress. Therefore, we can verify that the MIPEF technology was efficient in producing pumpkin with 27% more TCC one day after application.

C

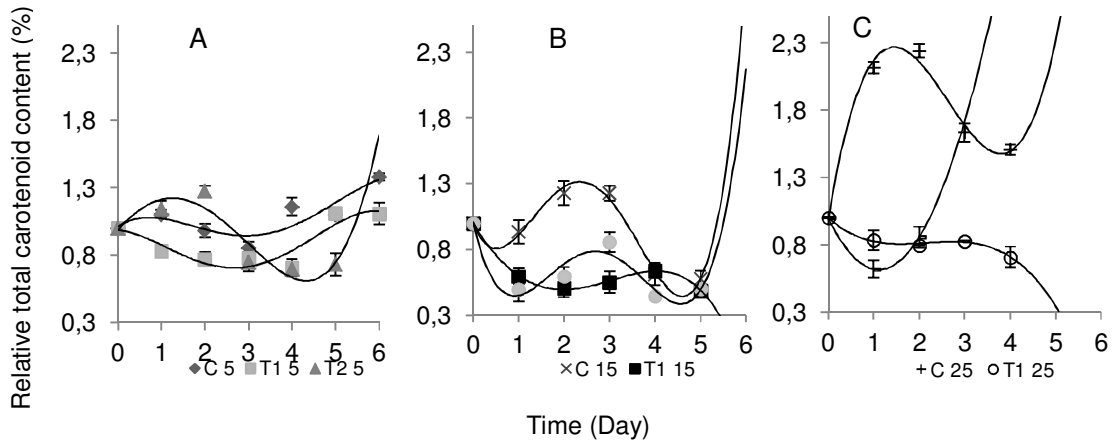


Figure 3. Relative values of total carotenoid content of pumpkin pieces subjected to a pulsed electric field and stored at different temperatures. Data shown are the mean \pm standard deviation ($n = 8$).

C = Untreated Sample; T1 = 0.4 kV/cm – 30 pulses; T2 = 2.0 kV/cm – 30 pulses; 5 = 5 °C; 15 = 15 °C; 25 = 25 °C; A = 5 °C; B = 15 °C; C = 25 °C

The increase of TCC can occur by a maturing process of the plant (Díaz-Mula et al., 2008) or after cold storage (Díaz-Mula et al., 2009). In this study, the effect of the stress by MPEF combined with cold storage (5 °C), could have stimulated the synthesis of TCC. During postharvest storage, carotene synthesis can occur in raw carrot (Berger et al., 2008), and in cooked and raw carrots stored at 4 °C in Ziploc® bags during the two first weeks of storage (Howard et al., 1999).

TCC decreased in the samples processed at 2.0 kV/cm and stored at 15 °C (Figure 3-B) or 25 °C (Figure 3) throughout the storage period. Studies have reported a decrease in the TCC of fresh-cut carrots during cold storage (Martin-Diana et al., 2006; Ruiz-Cruz et al., 2007), and in plums packed at modified atmosphere (Díaz-Mula et al., 2011).

The carotenoid decrease in fruit and vegetable products may be caused by the oxidation of their unsaturated structure (Kidmose et al., 2002). The oxidation can happen by self-oxidation, which is a spontaneous chain reaction of the free radicals in the presence of oxygen, or by photochemical oxidation produced by oxygen in the presence of light. These oxidative reactions can result in whitening, which is the cause of uncoloured products (Gross, 1991). The significance of the oxidation and the formed compounds depends on the structure of the carotenoids and their environmental

conditions (Ramakrishnan and Francis, 1980). Carotenoids are highly unsaturated compounds with an extensive system of double conjugated bonds; and are susceptible to changes such as isomerization, oxidation and chemical products during processing (Shi and LeMaguer, 2000). These compounds are therefore very unstable in storage (Dutta et al., 2009).

The results have shown that the TCC in the untreated samples increased in relation to the initial content, independent of the storage temperature (Figure 3). However, in this study the best results were found in the samples stored at 5 °C, this being is the most viable temperature to store a cut product in postharvest (Onyango and Imungy, 2007).

To obtain foods rich in nutritive compounds, chemical or physical methods can be used to induce cellular stress. The use of MIPEF has shown to be an effective applied physical method to obtain food highly enriched with nutritive compounds (Gomez-Galindo et al., 2008). However, this was not demonstrated in pumpkin until this study, and our results demonstrated that the application of MIPEF and storage at 5 °C were efficient to increase the total carotenoid content by 27%.

3.4 Antioxidant capacity

Pumpkins present antioxidant capacity due to the presence of antioxidants compounds in their tissues. The variation in antioxidant capacity in pumpkin pieces subjected to MIPEF treatment and stored at different temperatures is presented in Figure 4. The regression equations are presented in Table 1.

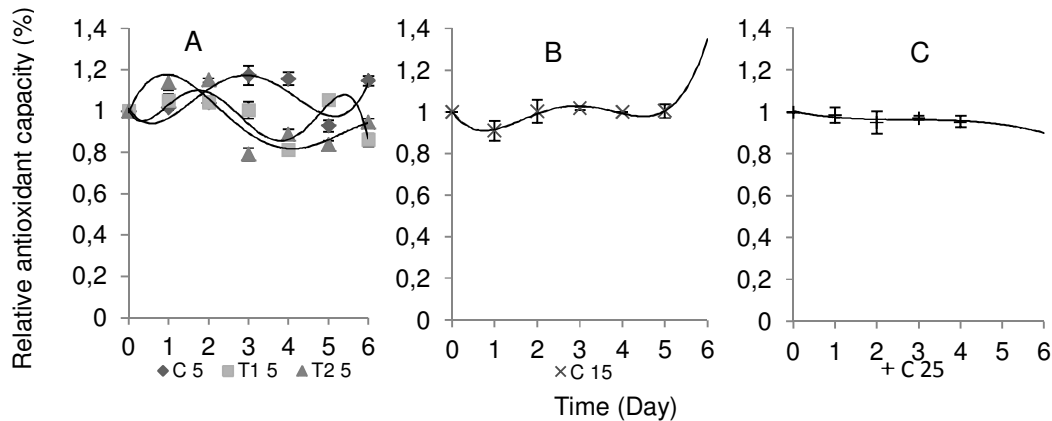


Figure 4. Relative values of antioxidant capacity of pumpkin pieces subjected to a pulsed electric field and stored at different temperatures. Data shown are the mean \pm standard deviation (n = 8).

C = Untreated Sample; T1 = 0.4 kV/cm – 30 pulses; T2 = 2.0 kV/cm – 30 pulses; 5 = 5°C; 15 = 15 °C; 25 = 25 °C; A = 5°C; B = 15 °C; C = 25 °C

Antioxidant capacity in the samples subjected to 2.0 kV/cm and stored at 5 °C increased by 15 % in comparison to the initial content, occurring on the first and second day of storage (Figure 4). In the untreated samples the antioxidant capacity also increased ($p < 0.05$) in comparison to the initial content, but this occurred on the third and fourth days of storage at 5 °C (Figure 4). However, after the third day of storage, the antioxidant capacity in these samples decreased. Kenny and Beirne (2010) also observed an increase in antioxidant capacity of carrots stored at 4 °C for 8 days and subjected to another physical stress, mechanical peeling. In this study, the antioxidant capacity increased or decreased in conjunction with the TCC. However, when these same samples were stored at 15 °C (Figure 4) and 25 °C (Figure 4), the antioxidant capacity declined, and time is not significant for the MPEF treated samples.

In the samples treated with 0.4 kV/cm the antioxidant capacity increased by 5 % ($p < 0.05$) in relation to the initial content after five days of storage at 5 °C (Figure 4-A), and this occurred when the same samples presented enhanced TPC and TCC. This may indicate that the increase observed in the total antioxidant capacity was due to the synthesis induced by stress of phenolic compounds and carotenoids (Kenny and Beirne, 2010).

Ruiz-Cruz et al. (2007) associated the increase of initial antioxidant capacity in minimally processed carrots with the cut stress. The cut stress induces the activity of the PAL enzyme and consequently the build-up of phenolic compounds. However, when the samples were stored at 15 °C (Figure 4-B) and at 25 °C (Figure 4-C) no change in antioxidant capacity was observed.

4. Conclusion

MIPEF treatment increased the total phenols and total carotenoid content, maintained the vitamin C content, and increased the total antioxidant capacity of pumpkin pieces, depending on the electric field strength (0.4 or 2.0 kV/cm) and the storage temperature.

Maximum increases in total phenolic content (300%) were obtained by combining 30 pulses at 0.4 kV/cm and a temperature of 25 °C for four days. The highest increase (27%) in total carotenoid content and antioxidant capacity (15%) was observed in the samples treated with 2.0 kV/cm and stored for two days at 5 °C. Higher temperatures (25 °C) and longer periods of storage are more efficient in promoting bioproduction of total phenolic content, while lower temperatures and shorter periods of storage are best for stimulating total carotenoid content synthesis.

Results confirm that MIPEF technology can be successfully used as a postharvest alternative for increasing bioactive compounds in pumpkin pieces to obtain a more nutritious fruit by maintaining vitamin C content, with a greater antioxidant capacity; therefore meeting consumer demand for highly nutritious fresh-like food products.

Acknowledgements

The authors acknowledge the financial support of the Spanish Institute of Agricultural and Food Research and Technology (INIA) through the project RTA2010-00079-C02-02. The ICREA Academia Award is also acknowledged by O. Martin-Belloso, "Coordenação de Aperfeiçoamento de Nível Superior" (CAPES)/Brazil that awarded the author Mirella Lima Binoti a pre-doctoral sandwich grant, "Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais" (FAPEMIG) for the doctoral grant and the University of Viçosa (UFV).

References

- AMES, B.M.; SHIGENA, M.K.; HAGEN, T.M. Oxidants, antioxidants and degenerative diseases of aging. *Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America*. v. 90, p. 7915–7922, 1993.
- APPEL, L.J.; MOORE, T.J.; OBARZANEK, E. A clinical trial of the effects of dietary patterns and blood pressure. *The New England Journal of Medicine*. v. 336, p. 1117–1124, 1997.
- ATKINSON, C. J.; NESTBY, R.; FORD, Y.Y.; DODDS, P.A. A. Enhancing beneficial antioxidants in fruits: A plant physiological perspective. *Biofactors*. v.23, p. 229-234, 2005.
- BERGER, M.; KÜCHLER, T.; MAABEN, A.; BUSCH-STOCKFISCH, M.; STEINHART, H. Correlations of carotene with sensory attributes in carrots under different storage conditions. *Food Chemistry*. v. 106, n. 1, p. 235 - 240, 2008.
- CISNEROS-ZEVALLOS, L. The use of controlled post-harvest abiotic stresses as a tool for enhancing the nutraceutical content and adding-value to fresh fruits and vegetables. *Journal of Food Science*. v. 68, n.5, p. 1560–1565, 2003.
- CORRALES, M.; TOEPFL, S.; BUTZ, P.; KNORR, D.; TAUSCHER, B. Extraction of anthocyanins from grape by-products assisted by ultrasonics, high hydrostatic pressure or pulsed electric fields: A comparison. *Innovative Food Science Emerging Technology*. v.9, p. 85 – 91, 2008.
- DAVEY, M. W.; VAN MONTAGU, M.; INZE, D.; SANMARTIN, M.; KANELIS, A.; SMIRNOFF, N.; BENZIE I. J. J.; STRAIN, J. J.; FAVELL, D.; FLETCHER, J. Plant L-ascorbic acid: chemistry, function, metabolism, bioavailability and effects of processing. *Journal Science Food Agriculture*. v. 80, p. 825 – 860, 2000.
- DÍAZ-MULA, H.M.; ZAPATA, P.J.; GUILLÉN, F.; CASTILLO, S.; MARTÍNEZ-ROMERO, D.; VALERO, D.; SERRANO, M. Changes in physicochemical and nutritive parameters and bioactive compounds during development and on-tree ripening of eight plum cultivars: a comparative study. *Journal Science Food Agriculture*. v. 88, p. 2499 – 2507, 2008.
- DÍAZ-MULA, H. M.; ZAPATA, P. J.; GUILLÉN, F.; MARTÍNEZ-ROMERO, D.; CASTILLO, S.; SERRANO, M.; VALERO, D. Changes in hydrophilic and

lipophilic antioxidant activity and related bioactive compounds during postharvest storage of yellow and purple plum cultivars. *Postharvest Biology and Technology*. v. 51, p. 354 – 363, 2009.

DÍAZ-MULA, H.M.; ZAPATA, P.J.; GUILLÉN, F.; VALVERDE, J. M.; VALERO, D.; SERRANO, M. Modified atmosphere packaging of yellow and purple plum cultivars. 2. Effect on bioactive compounds and antioxidant activity. *Postharvest Biology and Technology*. v. 61, p. 110 – 116, 2011.

DUTTA, D.; CHAUDHURI, U. R.; CHAKRABORTY, R. Degradation of total carotenoids and texture in frozen pumpkins when kept for storage under varying conditions of time and temperature. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. v. 60, p. 17 - 26, 2009.

GACHOVSKA, T.K., SIMPSON, M.V., NGADI, M.O., RAGHAVAN, G.S.V. Pulsed electric field treatment of carrots before drying and rehydration. *Journal Science Food Agriculture*. v. 89, p. 2372 - 2376, 2009.

GÓMEZ-GALINDO, F., SJÖHOLM, I., RASMUSSEN, A.G., WIDELL, S., KAACK, K. Plant stress physiology: opportunities and challenges for the food industry. *Critical Review Food Science Nutrition*. v. 47, p. 749 - 763, 2007.

GÓMEZ-GALINDO, F.; WADSÖ, L.; VICENTE, A.; DEJMEK, P. Exploring metabolic responses of potato tissue induced by electric pulses. *Food Biophys*. v. 3, p. 352 - 360, 2008.

GÓMEZ-GALINDO, F.; DEJMEK, P.; LUNDGREN, K.; RASMUSSEN, A.G.; VICENTE, A.; MORITZ, T. Metabolomic evaluation of pulsed electric field-induced stress on potato tissue. *Planta*. v. 230, p. 469 - 479, 2009.

GREGORY III, J. F. 1996. Vitamins. In O. R. Fennema (Ed.), *Food Chemistry*, 3rd ed., p. 559 - 568. New York: Marcel Dekker.

GROSS, J. 1991. Pigments in vegetables. Chlorophylls and carotenoids. New York: Van Nostrand Reinold.

GUEVEN, A.; KNORR, D. Isoflavonoid production by soy plant callus suspension culture. *Journal Food Engineering*. v. 103, p. 237 - 243, 2011.

GWANAMA, C.; BOTHA, A. M.; LABUSCHAGNE, M. T. Genetic effects and heterosis of flowering and fruit characteristics of tropical pumpkin. *Plant Breed*. v. 120, p. 271 - 272, 2001.

HOWARD, L.R.; GRIFFIN, L.E. Lignin formation and surface discoloration of minimally processed carrot sticks. *Journal of Food Science*. v. 58, p. 1065 - 1067, 1993.

HOUNSOME, N.; HOUNSOME, B.; TOMOS, D.; EDWARDS JONES, G. Plant metabolites and nutritional quality of vegetables. *Journal Food of Science*. v. 79, p. 48 - 65, 2008.

HOWARD, L.A.; WONG, A.D.; PERRY, A.K.; KLEIN, B.P. Beta-carotene and ascorbic acid retention in fresh and processed vegetables. *Journal of Food Science*. v. 64, p. 929 - 936, 1999.

KENNY, O.; BEIRNE, D. O'. Antioxidant phytochemicals in fresh-cut carrot disks as affected by peeling method. *Postharvest Biology and Technology*. v. 58, p. 247 - 253, 2010.

KIDMOSE, U., EDELENBOS, M., NOB_K, R., & CHRISTENSEN, L. P., 2002. Colour stability in vegetables. In: D. B. MacDougall (Ed.), *Colour in food: Improving quality*. 179 - 232. Florida, Boca Raton: CRC Press.

KREUTZMANN, S.; CHRISTENSEN, L.P.; EDELENBOS, M. Investigation of bitterness in carrots (*Daucus carota* L.) based on quantitative chemical and sensory analyses. *LWT - Food Science and Technology*. v. 41, n. 2, p. 193 - 205, 2008.

KRIS-ETHERTON, P. M.; HECKER, K. D.; BONANOME, A.; COVAL, S. M.; BINKOSKI, A. E. ; HILPERT, K. F. ; et al. Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular diseases and cancer. *American Journal of Medicine*. v. 113, p. 71 - 88, 2002.

LEE, S.K.; KADER, A.A. Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. *Postharvest Biology and Tecnology*. v. 20, p. 207- 220, 2000.

LI, J.; WANG, Y.; XIAOHUAHU, Z.; ZHANG, Z.; XIANG, C. Characterization and bioactivity of water-soluble polysaccharides from the fruit of pumpkin. *Journal Food Agriculture and Enviroment*. v. 8, n. 2, p. 237 – 241, 2010.

LÓPEZ, N.; PUÉRTOLAS, E.; CONDÓN, S.; ÁLVAREZ, I.; RASO, J. Application of pulsed electric fields for improving the maceration process during vinification of red wine: influence of grape variety. *European Food Research and Technology*. v. 227, p. 1099 – 1107, 2008a.

LÓPEZ, N.; PUÉRTOLAS, E.; CONDÓN, S.; ÁLVAREZ, I.; RASO, J. Effects of pulsed electric fields on the extraction of phenolic compounds during the fermentation of most of Tempranillo grapes. *Innovative Food Science Emerging Technologies*. v. 9, p. 477 – 482, 2008b.

MARTIN-DIANA, A. B.; RICO, D.; FRIAS, J.; MULCAHY, J.; HENEHAN, G.T.M.; BARRY-RYAN, C. Whey permeate as a bio-preservative for the shelf life maintenance of fresh-cut vegetables. *Innovative Food Science Emerging Technologies*. v. 7, p. 112 - 123, 2006.

MURKOVIC, M.; MÜLLEDER, U.; NEUNTEUFL, H. Carotenoides content in different varieties of pumpkins. *Journal of Food Composition and Analysis*. v. 15, p. 633 - 638, 2002.

NAVARRO, J. M.; PÉREZ-PÉREZ, J. G.; ROMERO, P.; BOTÍA, P. Analysis of the changes in quality in mandarin fruit, produced by deficit irrigation treatments. *Food Chemistry*. v. 119, p. 1591 - 1596, 2010.

NAWIRSKA, A.; FIGIEL, A.; ZUCHARSKA, A.Z.; SOKÓL-LETOWSKA, A.; BIESIADA, A. Drying kinetics and quality parameters of pumpkin slices dehydrated using different methods. *Journal Food Engering*. v. 94, p. 14 - 120, 2009.

NAWIRSKA-OLSZÁNSKA, A.; BIESIADA, A.; SOKÓL-LETOWSKA, A.; KUCHARSKA, A. Z. Content of bioactive compounds and antioxidant capacity of pumpkin puree enriched with Japanese quince, cornelian cherry, strawberry and apples. *ACTA Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*.v. 10, p. 51- 60, 2011.

ADE-OMOWAYE, B. I; TAIWO, K.; ESHTIAGHI, N.; ANGERSBACH, A.; KNORR, D. Comparative evaluation of the effects of pulsed electric field and freezing on cell membrane permeabilisation and mass transfer during dehydration of red bell peppers. *Innovative Food Science Emerging*. v. 4, p. 177–188, 2003.

ODRIOZOLA-SERRANO, I.; HERNÁNDEZ-JOVER, T.; MARTÍN-BELLOSO, O. Comparative evaluation of UV-HPLC methods and reducing agents to determine vitamin C in fruits. *Food Chemistry*. v. 105, p. 1151-1158, 2007.

ONYANGO, C.M.; IMUNGI, K. J. Post harvest handling and characteristics of fresh-cut traditional vegetables sold in Nairobi–Kenya. *African Crop Science Society Conference*. v. 8, p.1791-1794, 2007.

PANG, C.A.; WANG, B. Oxidative Stress and Salt Tolerance in Plants. *Progress in Botany*. v. 69, p. 231 - 246, 2008.

PATRAS, A.; BRUTON, N.; DA PIEVE.; BUTLER, F.; DOWNEY, G. Effect of thermal and high pressure processing on antioxidant activity and instrumental colour of tomato and carrot purees. *Innovative Food Science Emerging and Technology*. v. 10, p. 16 - 22, 2009.

RAMAKRISHNAN, T. V.; FRANCIS, F. J. Auto oxidation of carotenoids and their relative polarity. *Journal of Food Quality*. v. 3, p. 25 - 34, 1980.

RUIZ-CRUZ, S., ISLAS-OSUNA, M.A., SOTELO-MUNDO, R.R., VÁZQUEZ-ORTIZ, F., GONZÁLEZ- AGUILAR, G. A. Sanitation procedure affects biochemical and nutritional changes of shredded carrots. *Journal of Food Science*. v. 72, p. 146 - 152, 2007.

SABRI, N.; PELISSIER, B.; TEISSIÉ, J. Electropermeabilization of intact maize cells induces an oxidative stress. *European Journal of Biochemistry*. v. 238, p. 737 - 743, 1996.

SHI, J.; LE MAGUER, M. Lycopene in tomatoes: Chemical and physical properties affected by food processing. *Critical Review Food Science Nutrition*. v. 40, p. 1- 42, 2000.

SCHREINER, M.; HUYSKENS-KEIL, S. Phytochemicals in fruit and vegetables: Health promotion and postharvest elicitors. *Critical Review Plant Science*. v. 25, p. 267 - 278, 2006.

SCHILLIG, S.; TOEPFL, S.; LUDWIG, M.; DIETRICH, H.; KNORR, D.; NEIDHART, S.; SCHIEBER, A.; REINHOLD, C. Comparative study of juice production by pulsed electric field treatment and enzymatic maceration of apple mass. *Europe Food and Research Technology*. v. 226, p. 1389 - 1398, 2008.

SILVA, M. L. C.; COSTA, R. S.; SANTANA, A. S.; KOBLITZ, M. G. B. Phenolic compounds, carotenoids and antioxidant activity in plant products. *Semina: Ciências Agrárias*. v. 31, n. 3, p. 669 - 682, 2010.

SIMÕES, A.D.N.; TUDELA, J.A.; ALLENDE, A.; PUSCHMANN, R.; GIL, M.I. Edible coatings containing chitosan and moderate modified atmospheres maintain quality and enhance phytochemicals of carrot sticks. *Postharvest Biology and Technology*. v. 51, p. 364–370, 2009.

SOLIVA-FORTUNY, R.; BALASA, A.; KNORR, D.; MARTÍN-BELLOSO, O. Effects of pulsed electric fields on bioactive compounds in foods: a review. *Trends Food Science Technology*. v. 20, p. 544-556, 2009.

TOEPFL, S.; MATHYS, A.; HEINZ, V.; KNORR, D. Review: Potential of high hydrostatic pressure and pulsed electric fields for energy efficient and environmentally friendly food processing. *Food Review Internatonal*. v. 22, p. 405–423, 2006.

VOROBIEV, E.; LEBOVKA, N. Enhanced Extraction from Solid Foods and Biosuspensions by Pulsed Electrical Energy. *Food Eng. Rev.* v. 2, p. 95 - 108, 2010.

YE, H.; HUANG, L.L.; CHEN, S.D.; ZHONG, J.J. Pulsed electric field stimulates plant secondary metabolism in suspension cultures of *Taxus chinensis*. *Biotechnology and Bioengineering*. v. 88, p. 788 -795, 2004.

2.2ARTIGO 2 - Effect of pulsed electric fields on the bioactive compounds of fresh-cut pumpkin

ABSTRACT

The aim of the present work was studied the effect of moderate intensity pulsed electric fields (MIPEF) on bioactive compounds (total phenolic, total carotenoids and vitamin C) content in fresh-cut pumpkin with and without skin. Fresh-cut pumpkin were subjected to different moderate electric field (0.4, 1.2 and 2.0 kV/cm) and number of pulses (5, 20 and 30), then left at room temperature for 1 h. MIPEF-treated fresh-cut pumpkin contained a higher concentration of bioactive compounds than untreated fresh-cut pumpkin. The best combination to increment the total phenolic content of pumpkin with skin was 2.0 kV/cm and 5 pulses, and 0.4 kV/cm and 35 pulses for skinless pumpkin. In general, the PEF treatments did not alter vitamin C content. The highest total carotenoid content was found in the samples with skin subjected to 0.4 kV/cm and 5 pulse. Our results suggest that treatment with pulsed electric fields is sufficient to increase bioactive compounds in fresh-cut pumpkin, there by obtaining a more nutritious product.

Key-words: Pulsed electric field, bioactive compounds, Fresh-cut Pumpkin

INTRODUCTION

The positive association between consuming fruits and vegetables and the lower risk of cardiovascular disease, cancer, etc., has been described by many researchers (Steinmetz and Potter, 1996; Joshipura et al., 1999). Antioxidant compounds in fruits and vegetables reduce the risk of these chronic diseases by reducing free-radical mediated damage (Silva et al., 2010). These compounds include vitamin C, phenolic compounds and carotenoids (Hounsoume et al., 2008).

Pumpkin (*Cucurbita moschata*) is botanically defined as a fruit but commonly regarded as a vegetable by consumers. Flesh and seeds of pumpkin are often used for culinary and medicinal purposes (Azizah et al., 2009). Pumpkin is one of the most economically important domesticated

species in Mexico, Brazil, Colombia, Zambia and Malawi, because it is planted over a wide area, is cost-effective to produce and has high nutritional value including vitamin A, carbohydrates, phosphorus and minerals (Monte et al., 2004), and these nutrients are present both in the pulp and in the skin of the fruit. Pumpkins are processed for juice, pomace, pickles and dried products (Nawirska et al., 2009).

Pulsed electric fields have the potential to be used as an alternative to conventional techniques of food production. High-intensity pulsed electric fields have been used to inactivate microorganisms in foods (Soliva-Fortuny et al., 2009), but at lower and moderate field may be used to improve extraction yield or increase the rate of drying (Chalermchat and Dejmeek, 2005). At lower and moderate intensities, physiological responses to PEF-induced stress remain largely unknown. Moderate intensity pulsed electric fields (MIPEF) may affect metabolism by causing an oxidative burst and consequent generation of reactive oxygen species (ROS) (Gomez-Galindo et al., 2007; 2009) and stimulate the production of secondary metabolites. But so far not studied the effect of MIPEF in fresh-cut pumpkin, and define the parameters of the best treatment is essential to meet consumer demand for practical products while more nutritious.

Therefore, in this study was investigated the effects of processing parameters of MIPEF, namely electric field and number of pulses, on total phenolic content, vitamin C and total carotenoids in pumpkin fresh-cut with and without skin, and define the best combination of treatment under the conditions studied, for maximizing the content of these compounds.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1 Pumpkin

Butternut pumpkins (*Cucurbita moschata* Duchesne ex Poiret) were bought at the Central Fruit and Vegetable Market in Lleida (Spain) at commercial maturity. The fruits were transported to the University of Lleida (Spain) and stored at a temperature of $14 \pm 1^\circ\text{C}$.

The pumpkin pieces were obtained from whole fruits and without apparent damages to the skin. They were washed and sanitized for 5 min in chlorine solution of 200 ppm. Seeds were removed and the pumpkins were cut

intopieces of $35 \text{ g} \pm 5 \text{ g}$. The skin of some of the sampled pieces was manually removed with a knife.

2.2 Moderate pulsed electric field processing and storage

MIPEF treatments were conducted in batch equipment manufactured by Physics International (San Leandro, CA, USA), which delivers pulses from a capacitor of $0.1 \mu\text{F}$ with an exponential decaying waveform. A stainless steel parallel plate treatment chamber was used. A batch of pumpkin pieces, with or without skin, was placed in the treatment chamber filled with tap water. Fresh-cut pumpkin was treated at 0.4 kV/cm using 5, 20 or 30 pulses; or at 1.2 kV/cm using 5, 20 or 30 pulses; or 2.0 kV/cm using 5, 20 or 30 pulses. The pulses used was monopolar pulses of $4 \mu\text{s}$ at a frequency of 0.1 Hz . Each treatment was repeated twice. MIPEF-treated fresh-cut pumpkin was collected and left at ambient temperature for 1 hour. Untreated fresh-cut pumpkin was used as a control. Both untreated and MIPEF-treated fresh-cut pumpkin were lyophilized and stored until analysis.

2.3 Extraction and analyses of total phenolic content (TPC)

Samples were treated following Patras et al. (2009) with modifications. Methanolic extracts were prepared by adding 5 ml of methanol 80% to 0.5 g of the lyophilized sample and homogenized for 2 min at 10,200 rpm in an ice bath (Ultraturrax -IKA+25digital - Germany). The samples were centrifuged for 15 min at 10,000 rpm at $5 \text{ }^\circ\text{C}$ (centrifuge Avanti TMJ-25, Beckman Instruments Inc., Fullerton, CA, USA). The supernatant was filtered through a Whatman filter paper. The solid residue was homogenized in 5 mL of methanol 80%, centrifuged and filtered as described previously. The filtered extracts were homogenized and used in the analysis of TPC.

TPC was determined using the Folin-Ciocalteu reagent according to Patras et al. (2009). In a volumetric flask, 0.5 mL of methanolic extract, 0.5 mL of Folin-Ciocalteu (FC) and 2.0 mL of 20% Na_2CO_3 were added together quickly, and the volume was topped to 25 mL with distilled water. The volumetric flask, was left in the dark for 60 min at room temperature. The absorbance of the sample was read at 735 nm in a spectrophotometer (CECIL CE2021; Cecil Instruments Ltd., Cambridge, UK), using aqueous

gallic acid (1-40 mg/L) as standard. Results were expressed as mg of gallic acid equivalent by 100g of fresh weight sample.

2.4 Extraction and analyses of total carotenoid content (TCC)

The extraction procedure was following Patraset al. (2009) with modifications. Extractions were carried out using 10 ml of hexane:acetone (7:3) and 0.25 g of lyophilized sample and homogenized for 2 min at 10,200 rpm in an ice bath (Ultraturrax -IKA+25digital - Germany). The samples were then centrifuged for 15 min at 10,000 rpm at 5 °C (centrifuge AvantiTMJ-25, Beckman Instruments Inc., Fullerton, CA, USA). The supernatant was filtered through a Whatman filter paper. The samples were decanted and the supernatant was filtered again through a Whatman filter paper. The residue was re-extracted until it became colourless. The filtrates were combined in a separatory funnel and washed with 25 mL distilled water. The water phase was discarded and Na₂SO₄ (5 g) was added as desiccant. The hexane:acetone (7:3) phase was transferred to a 25 mL volumetric flask and brought to volume with hexane:acetone (7:3). The absorbance of this solution was determined at 450 nm using a UV-Vis spectrophotometer (CECIL CE2021; Cecil Instruments Ltd., Cambridge, UK). External calibration with β-carotene standards solutions (1-10 g/100 ml) in hexane:acetone (7:3) was used to quantify carotenoids in the solutions. Carotenoid content was expressed as mg of β-carotene/100 g fresh weight of sample.

2.5 Extraction and analyses of vitamin C content

Samples were following Odriozola-Serrano et al. (2007) with modifications. A sample of 0.5 g lyophilized fresh-cut pumpkin was mixed with 10 mL of a solution containing 4.5% w/v metaphosphoric acid and 0.72% w/v dithiothreitol (DTT). The mixture was homogenized for 2 min at 10,200 rpm in an ice bath (Ultraturrax – IKA + 25 digital- Germany), and centrifuged at 12,500 rpm for 15 min at 4 °C (Centrifuge Avanti J-25, Beckman Instruments Inc., Fullerton, CA), and the supernatant was filtered through a Whatman filter paper. The samples were filtered with a Millipore 0.45 μm membrane and stored at -40 °C until the time of analysis. An aliquot of 50 μL was injected into an HPLC system equipped with a reverse-phase

C18 Spherisorb ODS2 (5 µm) stainless steel column (4.6 mm x 250 mm) and an isocratic mobile phase consisting on Milli-Q water adjusted to pH 2.6 with a 0.01% sulfuric acid solution flowing at 1 mL/min. Vitamin C detection was carried out with a 486 absorbance detector (Waters, Milford, MA) working at 254 nm. A calibration curve (0 - 500 mg / L) with ascorbic acid (Scharlau Chemie, S.A., Barcelona, Spain) was built for vitamin C quantification, and results were expressed as mg of ascorbic acid per 100 g of fresh weight sample.

Relative values of TPC, TCC and vitamin C content were defined as the each compound in fresh-cut pumpkin treated with MIPEF divided by the content in untreated fresh-cut pumpkin.

2.6 Statistical Analysis

The different treatments, which varied the electric field and number of pulses, were conducted in duplicate. Each analysis (total phenolic content, total carotenoid content and vitamin C) was performed three times. The analysis of variance (ANOVA) was carried out using the statistical analysis system JMP® 8.0.1 (SAS Institute Inc, Cary, NC, USA) to assess the effect of different parameters, electric field, number of pulses and skin, on the total phenolic contents, total carotenoid contents and vitamin C content. The Tukey test ($p < 0.05$) was used to compare the average values obtained.

RESULTS AND DISCUSSION

1. Effect of MIPEF on total phenolic content (TFC)

The initial total phenolic content in untreated pumpkin with skin was 30.5 mg of gallic acid / 100 g and 23 mg of gallic acid / 100g in skinless pumpkin. This concentration was lower than that obtained for pumpkin with skin, since these nutrients are contained in both the pulp and the skin of the fruit. The literature presents values between 20-23 mg / 100 grams in the pulp of pumpkin (Nawirska-Olszńska et al., 2011).

The variation of TPC in pumpkin pieces subjected to different electric field and numbers of pulses is presented in Figure 1. The results show that TPC

of pumpkin depended significantly ($p < 0.05$) on the condition of the MIPEF treatment (intensity of the electric field and number of pulses).

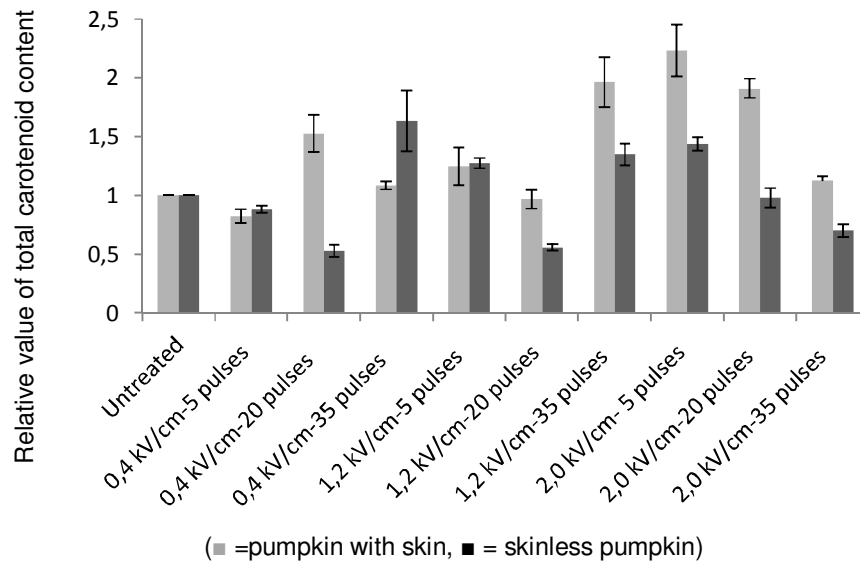


Figure 1. Relative values of total phenolic compound concentration in pumpkin pieces one hour after treatment with MIPEF.

The application of an electric field of 0.4 kV/cm - 5 pulses in samples with skin caused a reduction in TPC compared to the untreated samples, but there was no significant difference ($p > 0.05$) between them.

Applying MIPEF treatment to pumpkin with skin, 0.4 kV/cm - 20 pulses and 1.2 kV/cm - 5 pulses, the TPC was statistically higher ($p < 0.05$) than the untreated sample, with increases of 50% and 24%, respectively. In the samples treated with 1.2 kV/cm and 35 pulses TPC improved by 96% compared to the untreated sample ($p < 0.05$). The results show that TPC of pumpkin subjected to 2.0 kV/cm - 5 pulses was 220% higher than the untreated sample, and with 2.0 kV/cm - 20 pulses the increase was 90% relative to the untreated sample. This increase might be due to the MIPEF treatment conditions applied to the pumpkin, suggesting that it was enough to stimulate the synthesis of phenolic compounds. These data confirm that MIPEF can activate plants' defensive pathways, increasing the level of bioactive compounds (Gomez-Galindo et al., 2007). However, the TPC in the samples subjected to 2.0 kV/cm combined with 35 pulses did not differ

statistically from the untreated sample ($p > 0.05$). Phenolic compounds are secondary metabolites that take action against cellular damage. The PAL enzyme is involved in the synthesis pathways of phenolic compounds and this enzyme can be affected by physical damage, e.g. MIPEF. This damage promotes the stimulation of the PAL enzyme, increasing phenolic compound synthesis (Sanchez et al., 2000). Depending on the combination of the applied pulses and electric field, the PAL may or may not be affected. If the enzyme is affected, there may be an increase in synthesis of phenolic compounds; however, if there is no interference in the PAL activity, these compounds are not synthesized. In the absence of this synthesis, the plant can use the already existing phenolic compounds to neutralize the action of free radicals (Gomez-Galindo et al., 2007); therefore its total content may be reduced. To test this hypothesis, further studies are needed to assess if the action of the PAL enzyme is increased or decreased depending on the combination of applied pulses and electric field.

The decreases observed can be explained because the MIPEF can affect metabolism by inducing an oxidative explosion, which generates reactive oxygen species (ROS) that include superoxide (O_2^-), hydrogen peroxide (H_2O_2) and hydroxyl radical ($-OH$) (Gomez-Galindo et al., 2007). The appearance of free radicals in the plant enables the activation of secondary metabolism pathways and the synthesis of compounds with antioxidant properties to neutralize these radicals. Phenolic compounds are examples of compounds with antioxidant properties (Thipyapong et al. 1995). Therefore, since the samples subjected to MIPEF suffer greater damage than untreated samples, there will be greater use of phenolic compounds to neutralize the generated free radicals.

In the samples with skin, with MIPEF of 0.4 kV / cm - 35 pulses, and 1.2 kV / cm - 35 pulses, TPC remained statistically equal ($p > 0.05$) to the untreated sample. These combinations of MIPEF were either not capable of stimulating the synthesis of phenolic compounds, or the produced compounds were used to neutralize the free radicals generated by stress.

Statistically significant reductions ($p < 0.05$) in TPC were seen when subjecting the fresh-cut pumpkin without skin to 0.4 kV/cm - 20 pulses and to 1.2 kV/cm - 20 pulses with a reduction of 50% compared to the untreated

sample. The samples treated with 2.0 kV/cm - 35 pulses showed a 30% reduction. The cases in which TPC was reduced or remained stable might be due to the combinations of MIPEF being insufficient to stimulate the synthesis of phenolic compounds. In addition, the phenolic compounds present in the pumpkin could have been used to neutralize the free radicals that cause cellular damage, reducing their total content (Gomez-Galindo et al., 2007).

The TPC in the skinless samples processed with 0.4 kV/cm - 35 pulses increased 60% ($p < 0.05$) compared to the untreated sample. Subjecting the pumpkin to 1.2 kV/cm - 5 or 35 pulses caused increases of 27% and 35% compared to the untreated sample. In cases of TPC increases suggests that the combinations of MIPEF applied to the pumpkin were capable of stimulating the synthesis pathways of these bioactive compounds. When 2.0 kV/cm - 5 pulses were applied to fresh-cut skinless pumpkin, the TPC was 43% higher than the untreated sample ($p < 0.05$). These MIPEF parameters applied to the pumpkin could have stimulated the PAL enzyme (Sanchez et al., 2000), which is involved in the synthesis of TPC, although enzymatic studies are needed to confirm this hypothesis. The application of 0.4 kV/cm - 5 pulses and 2.0 kV/cm - 20 pulses did not statistically change TPC ($p > 0.05$) compared to untreated sample.

2. Effect of MIPEF on total carotenoid content (TCC)

Pumpkins contain high concentrations of carotenoids in the pulp and low concentrations in the skin. One study shows that the Butternut variety has a concentration of β -carotene varying 120-130 mg/100g in the pulp (Nawirska et al., 2009). Depending on the variety of pumpkin, the levels of carotenoids may change (Azevedo-Meleiro & Rodriguez-Amaya, 2007). In this study, we found 140.66 – 170.0 mg/100 g content of carotenoids in the untreated pumpkin, values similar to those found in literature (Nawirska et al., 2009). The TCC in pumpkin pieces subjected to different electric field and number of pulses, with and without skin and kept one hour after processing is shown in Figure 2.

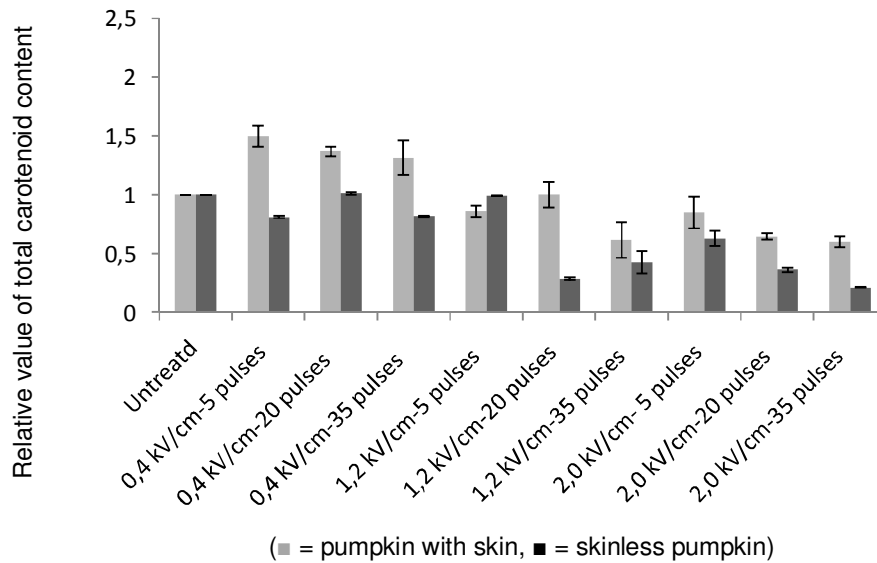


Figure 2. Relative values of total carotenoid content concentration in pumpkin pieces one hour after treatment with MIPEF.

The variation in electric field and number of pulses applied to the plant has different effects in vegetable cells. The general tendency was that the more intense the electric field and the number of pulses applied, and the absence of the skin the lower the quantity of carotenoids.

The maximum concentrations of TCC were obtained through the application of 0.4 kV/cm combined with 5, 20 and 35 electric pulses in fresh-cut pumpkin with skin, with TCC content being 50%, 37% and 31%, respectively, higher than the untreated sample ($p < 0.05$). These combinations of MIPEF, applied to the pumpkin, could have stimulated carotenoid synthesis or caused this bioactive compound to become more available, i.e. promoted its release from the plant's tissue.

The application of MIPEF above a certain threshold in biological cells can result in electroporation of the cell wall or membrane. This increases permeability of cellular walls and facilitates the release of intracellular content (Knorr and Angersbach, 1998). However, the degree of electroporation depends on many factors, including components of the treated product (cellular properties of the vegetable tissue like size, conductivity, shape and orientation), intensity of electric field, type of pulse, shape of wave, time of treatment and number of pulses (Jeyamkondan et al., 1999). The combination of MIPEF as pretreatment and processing has been reported to be efficient

for improving the yield of apple, carrot, beet, alfalfa juice, and other fruits and vegetables (Gachovska et al.,2006) .Chalermchat et al.(2004) used MIPEF to increase the extraction of pigments from beet roots. Gachovska et al. (2006) reported an increase in mineral extraction from alfalfa after treatment with MIPEF.

Through the application of 1.2 kV/cm or 2.0 kV / cm combined with 5, 20 or 35 pulses in fresh-cut pumpkin with skin, the total carotenoid content decreased compared to untreated sample. The results suggest that these combinations of MIPEF were either incapable of stimulating the synthesis of carotenoid compounds, or the nutrients present in the pumpkin were used to neutralize the free radicals generated by the damage caused by the treatment. However, the reduction in content of carotenoids has not been necessarily caused by the treatment of MIPEF. The main cause for carotenoid loss in vegetable products is oxidation of their unsaturated structure (Kidmose et al., 2002). This might occur by self-oxidation, which is a spontaneous chain reaction of free radicals in the presence of oxygen, or by photochemical oxidation produced by oxygen in the presence of light (Gross,1991).

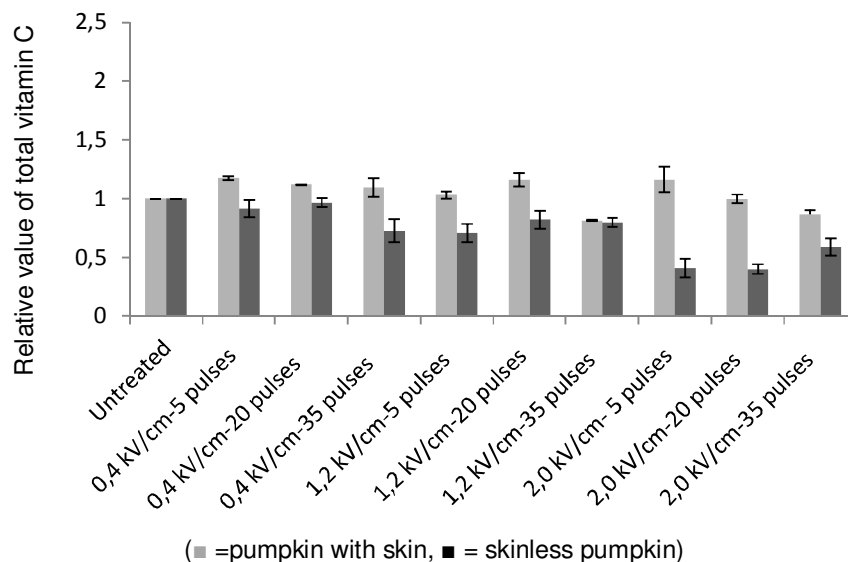
In subjecting the skinless pumpkin to MIPEF, no increase was seen in the carotenoid content (Figure 2) in relation to the untreated sample. The total carotenoid content of skinless pumpkin subjected to 0.4 kV/cm combined with 5 or 35 pulses decreased significantly ($p<0.05$) by 20% and 19%, respectively, in relation to the untreated sample. When 1.2 kV/cm combined with 20 or 35 pulses was used, the reduction in total carotenoid content was 62% and 68% in relation to the untreated sample. The reduction of this bioactive compound was even greater when using 2.0 kV/cm, as the greater numbers of pulses associated with this electric field caused higher reductions in relation to the untreated sample. The losses were statistically significant ($p<0.05$). Our results suggest that these combinations of MIPEF were either incapable of stimulating the synthesis of carotenoid compounds, or the nutrients in the pumpkin were used to neutralize the free radicals generated by the damage caused by the treatment. However the presence of skin in the pumpkin pieces could have promoted some type of protection against the loss of these nutrients, since the decrease seen was

higher in the skinless fresh-cut pumpkin. When the samples were subjected to 0.4 kV/cm - 20 pulses, and to 1.2 kV/cm - 5 pulses, there was no observed alteration in the total carotenoid content.

3. Effect of MIPEF on vitamin C content

Butternut pumpkin has low concentration of vitamin C, which varies from 9 - 10mg/100g (Nawirska et al., 2009) in the pulp. In this study the vitamin C content in untreated fresh-cut pumpkin (with and without skin) varied from 2.01 – 4.38 mg/100g. Figure 3 shows the concentrations of vitamin C obtained in fresh-cut pumpkin 1 hour after processing.

The variations in number of pulses and electric field strength had different effects on the vitamin C content. The general trend is that the nutrient concentration decreased when the electric field strength increased. In the samples with skin, the 0.4 kV/cm treatment combined with 5, 20 and 35 pulses increased the total vitamin C content of the fresh-cut pumpkin by 17%, 12% and 9%, respectively. On the other hand, in the samples subjected to 1.2 kV/cm combined with 20 pulses, and 2,0 kV/cm with 5 pulses, this nutrient increased by 16 % (both) in relation to the untreated sample. The content of this vitamin in the treated samples differ statistically ($p>0.05$) from the vitamin C content of the untreated sample.



(■ = pumpkin with skin, ■ = skinless pumpkin)
Figure 3. Relative values of vitamin C concentration in pumpkin pieces 1 hour after treatment with MIPEF.

By applying 1,2 Kv/cm with 5 pulses or 2.0 kV/cm with 20 pulses, the concentration of vitamin C in fresh-cut pumpkin with skin remained statistically equal ($p < 0.05$) to the untreated sample and we deduced that the antioxidant was not affected, i.e. the stress did not cause damage at the cellular level. However, the vitamin C content in the samples with skin subjected to 1.2 kV/cm - 35 pulses, or to 2.0 kV/cm - 35 pulses reduced compared to the untreated sample, the content of this vitamin in the treated samples differ statistically ($p > 0.05$) from the vitamin C content of the untreated sample.

In skinless samples subjected to MIPEF, the vitamin C content reduced compared to untreated sample; they differ statistically ($p > 0.05$). In addition to being very sensitive to any type of stress, Vitamin C is also very susceptible to light, oxygen, temperature, pH and degrading enzymes (Gregory, 1996), any of which could justify the observed losses. It is also the reference antioxidant in vegetables; therefore it is interesting that its concentration is maintained after the application of a treatment. Furthermore, PEFMI treatment is a stress, and hence causes biological responses in plants, such as the activation of the defense mechanisms. Plants have mechanisms to protect cellular and sub-cellular structures from the effects of reactive oxygen species using enzymatic and non-enzymatic antioxidants, which are found in different organelles like chloroplasts, mitochondria and peroxisomes (Pang; Wang, 2008). Non-enzymatic antioxidant systems include glutathione, ascorbic acid (vitamin C) and phenolic compounds. Therefore, the stresses caused the loss of vitamin C.

CONCLUSION

The results suggest that treatment with pulsed electric field has potential for increasing TPC and TCC of MIPEF-treated fresh-cut pumpkin. In this study the combination more efficient to increase the total phenolic content in pumpkins with skin was 2.0 kV/cm and 5 pulses, and for the skinless pumpkin, 0.4 kV/cm and 35 electric pulses. In general the treatment with MIPEF was efficient for maintaining the vitamin C content. The highest total carotenoid content was found in the samples with skin subjected to 0.4

kV/cm and 5 pulses. The presence of skin on the pumpkin pieces has a positive influence, resulting in higher content of all the compounds studied.

Our study presents MIPeF as an efficient method of increasing phenolic content and carotenoid in fresh-cut pumpkin, resulting in a product with enhanced nutritional value, able to meet consumer demand for healthier foods, raising expectations for agriculture and industry.

Acknowledgements

This study has been made possible with financial support from the Spanish Institute of Agricultural and Food Research and Technology (INIA, Spain) through the project RTA 2010-00079-C02-02. We thank “Coordenação de Aperfeiçoamento de Nível Superior” (CAPES)/Brazil for awarding the author Mirella Lima Binoti a pre-doctoral sandwich grant, “Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais” (FAPEMIG) for the doctoral Grant and the University of Viçosa (UFV).

REFERENCES

- ADE-OMOWAYE, B. I.; TAIWO, K.; ESHTIAGHI, N.; ANGERSBACH, A.; KNORR, D. Comparative evaluation of the effects of pulsed electric field and freezing on cell membrane permeabilisation and mass transfer during dehydration of red bell peppers. *Innov. Food Science Emerging*. v. 4, p. 177–188, 2003.
- AZEVEDO-MELEIRO, C. H.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Qualitative and Quantitative Differences in Carotenoid Composition among *Cucurbita moschata*, *Cucurbita maxima*, and *Cucurbita pepo*. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. v. 55, p. 4027-4033, 2007.
- AZIZAH, A. H.; WEE, K. C.; AZIZAH, O.; AZIZAH, M. Effect of boiling and stir frying on total phenolics, carotenoids and radical scavenging activity of pumpkin (*Cucurbita moschata*). *International Food Research Journal*. v. 16, p. 45-51, 2009.
- CHALERMCHAT Y, FINCAN M, DEJMEK P. Pulsed electric field treatment for solid–liquid extraction of red beetroot pigment: mathematical modelling of mass transfer. *Journal of Food Engineering*. v. 64, n.2, p. 229–336, 2004.

GABRIEL, B.; TEISSIÉ. Generation of reactive-oxygen species induced by electroporation of Chinese hamster ovary cells and their consequence on cell viability. *European Journal of Biochemistry*. v. 223, p.25, 1994.

GACHOVSKA, T; NGADI, M; RAGHAVAN, V. Pulsed electric field assisted juice extraction from alfalfa. v.48, n. 3, p. 33 -37, 2006.

GÓMEZ-GALINDO, F., SJÖHOLM, I., RASMUSSEN, A.G., WIDELL, S., KAACK, K. Plant stress physiology: opportunities and challenges for the food industry. *Critical Reviews of Food Science Nutrition*. v. 47, 749-763, 2007.

GÓMEZ-GALINDO, F., WADSÖ, L., VICENTE, A., DEJMEK, P. Exploring metabolic responses of potato tissue induced by electric pulses. *Food Biophysics*. v. 3, p. 352-360, 2008.

GALINDO, F.; DEJMEK, P.; LUNDGREN, K.; RASMUSSEN, A.; VICENTE, A.; MORITZ, T. Metabolomic evaluation of pulsed electric field-induced stress on potato tissue. *Planta*. v. 230, p. 469–479, 2009.

GROSS, J. (1991). *Pigments in vegetables. Chlorophylls and carotenoids*. New York: Van Nostrand Reinold.

GREGORY, J. F. (1996). Vitamins (c). In O. R. Fennema (Ed.), *Food chemistry* (pp. 559–606). New York: Marcel Dekker.

HENNEKENS, C.H., SPIEGELMAN, D., WILLETT, W.C Fruit and vegetable intake in relation to risk of ischemic stroke. *Journal of the American Medical Association*. v. 282, n. 13, p. 1233–1239, 1999.

HOUNSOME, N., HOUNSOME, B., TOMOS, D., EDWARDS JONES, G. Plant metabolites and nutritional quality of vegetables. *Journal of Food Science*. v. 79, n. 48-65, 2008.

JEYAMKONDAN S, JAYAS DS, HOLLEY RA. 1999. Pulsed electric field processing of foods: a review. *Journal Food Protection*. v. 62, n.9, p. 1088–96.

KIDMOSE, U., EDELENBOS, M., NOB_K, R., & CHRISTENSEN, L. P. 2002. Colour stability in vegetables. In D. B. MacDougall (Ed.), *Colour in food: Improving quality*. 179–232. Florida, Boca Raton: CRC Press.

KNORR, D.; ANGERSBACH A. Impact of high-intensity electric field pulses on plant membrane permeabilization. *Trends Food Science and Technology*. v. 9, n. 5, p. 185-91, 1998.

NAWIRSKA, A.; FIGIEL, A.; KUCHARSKA, A. Z.; SOKOL-LETOWSKA, ANNA; BIESIADA, A. Drying kinetics and quality parameters of pumpkin slices dehydrated using different methods. *Journal of Food Engineering*. v. 94, p. 14 - 20, 2009.

ODRIOZOLA-SERRANO, I.; HERNÁNDEZ-JOVER, T.; MARTÍN-BELLOSO, O. Comparative evaluation of UV-HPLC methods and reducing agents to determine vitamin C in fruits. *Food Chemistry*. v. 105, p. 1151-1158, 2007.

PANG, C.A.; WANG, B. Oxidative Stress and Salt Tolerance in Plants. *Progress in Botany*. v. 69, p. 231-246, 2008.

PATRAS, A., BRUTON, N., DA PIEVE., BUTLER, F., DOWNEY, G. Effect of thermal and high pressure processing on antioxidant activity and instrumental colour of tomato and carrot purees. *Innovative Food Science Emerging and Technology*. v. 10, p. 16-22, 2009.

SILVA, M. L. C.; COSTA, R. S.; SANTANA, A. S.; KOBLITZ, M. G. B. Phenolic compounds, carotenoids and antioxidant activity in plant products. *Semina: Ciências Agrárias*. v. 31, n. 3, p. 669 – 682, 2010.

SOLIVA-FORTUNY, R.; BALASA, A.; KNORR, D.; MARTÍN-BELLOSO, O. Effects of pulsed electric fields on bioactive compounds in foods: a review. *Trends Food Science Technology*. v. 20, p. 544–55, 2009.

STEINMETZ, K.A., POTTER, J.D. Vegetables, fruit, and cancer prevention: a review. *Journal of the American Dietetic Association*. v. 96, n. 10, 1027- 1039, 1996.

THIPYAPONG, P.; HUNT, M. D.; STEFFENS J. C. Systemic wound induction of potato (*Solanum tuberosum*) polyphenol oxidase. *Phytochemistry*. v. 40, p. 673–676, 1995.

SÁNCHEZ, E., SOTO, J.M., GARCÍA, P. C., LÓPEZ-LEFEBRE, L.R., RIVERO, R.M., RUIZ, J.M.; ROMERO, L. Phenolic compounds and oxidative metabolism in green bean plants under nitrogen toxicity. *Australian Journal of Plant Physiology*. v. 27, p. 973-978, 2000.

VALLEJO, F.; TOMÁS-BARBERÁN, F.A.; GARCÍA-VIGUERA, C. Effect of climatic and sulphur fertilisation conditions on phenolic compounds and vitamin C, in the inflorescences of eight broccoli cultivars. *European Food Research and Technology*. v. 216, p. 395-401, 2003a.

VALLEJO, F.; TOMÁS-BARBERÁN, F.A.; GONZALEZ BENAVENTE-GARCÍA, A.; GARCÍA-VIGUERA, C. Total and individual glucosinolate contents in inflorescences of eight broccoli cultivars under various climatic and fertilisation conditions. *Journal of Science and Food Agriculture*. v. 83, p. 307-313, 2003.

2.3 ARTIGO 3 - Características microbiológicas e físico químicas, taxa respiratória e produção de etileno em pedaços de abóbora minimamente processados submetidos a campo elétrico pulsado de moderada intensidade

Resumo

Os consumidores procuram por alimentos práticos e ao mesmo tempo nutritivos e parecidos com o *in natura*. O objetivo desse trabalho foi avaliar as características microbiológicas e físico químicas, a taxa respiratória e a produção de etileno em pedaços de abóbora minimamente processados submetidos a campo elétrico pulsado de moderada intensidade (CEPMI). Pedaços de abóbora com casca foram submetidos a 0,4 kV/cm e 20 pulsos ou 2,0 kV/cm e 5 pulsos, e pedaços de abóbora sem casca a 0,4 kV/cm e 35 pulsos. As amostras foram armazenadas a 5 °C por 15 dias, e as análises (microbiológica, pH, acidez titulável, sólidos solúveis, cor, textura, análise do perfil de textura (TPA), taxa respiratória e produção de etileno) foram realizadas a cada 3 dias. O tratamento de CEPMI de 0,4 kV/cm nos pedaços de abóbora com casca não promoveu alterações significativas nos teores de pH, sólidos solúveis, acidez titulável, L*, a*, b*, textura, elasticidade, gomosidade, mastigabilidade, concentrações de O₂, CO₂ e etileno. Já nos pedaços submetidos a 2,0 kV/cm não foi alterada a acidez titulável, L*, a*, e a elasticidade. Nos pedaços de abóbora tratados sem casca não foi alterada a acidez titulável, L*, a*, b*, dureza, elasticidade, coesividade, gomosidade, mastigabilidade, concentrações de O₂ e etileno. Deste modo observa-se que o tratamento de CEPMI pode ser utilizado em pedaços de abóbora minimamente processados com êxito na produção de um alimento prático, seguro e nutritivo.

Palavras chave: campo elétrico pulsado, abóbora minimamente processada, características físico químicas, taxa respiratória, TPA, textura

Introdução

As mudanças nos hábitos alimentares da população mundial mostram um aumento no consumo de frutas e hortaliças, além de uma busca constante

por alimentos de conveniência, que exijam tempo reduzido de manuseio e preparo sem, no entanto, alterar suas características sensoriais e nutricionais originais.

Estudos recentes sobre novas tecnologias de processamento de alimentos, como a aplicação de campo elétrico pulsado de moderada intensidade (CEPMI), sugerem a possibilidade de utilizar essa técnica na pós-colheita para estressar as células vegetais e estimular seu metabolismo secundário e conseqüentemente, a biossíntese de metabolitos com valor funcional benéfico para a saúde (Gómez-Galindo et al., 2007).

A abóbora da espécie *Butternut* é popularmente conhecida como calabacita (*Cucurbita moschata Duchesne ex Poiret*) e a qualidade do gosto desse fruto é preferido pelos consumidores. Tem sido usada tradicionalmente na medicina em muitos países como a China, Iugoslávia, Argentina, Índia, México, Brasil e América (Andrade-Cetto & Heinrich, 2005). É atualmente cultivada em grande escala no Brasil e em outras regiões tropicais. Os carotenóides são os pigmentos vegetais naturais responsáveis pela cor laranja da abóbora. Elas são ricas nesse nutriente, sendo importantes como meio de obtenção de carotenóides no mundo inteiro (Azevedo-Meleiro e Rodriguez-Amaya, 2007).

Apesar do alto valor nutritivo, o consumo da abóbora só não é maior devido ao grande tamanho dos frutos e a dificuldade no descascamento, tornando seu preparo muito trabalhoso. Por isso, a oferta desse produto na forma minimamente processada é uma alternativa interessante para o mercado (Sasaki et al., 2006). Assim, a abóbora (*Cucurbita moschata Duch*), que é uma olerícola de grande aceitação em todo o mundo, encontra no processamento mínimo, uma forma eficiente de aumentar o consumo e o valor agregado ao produto, sendo que seu valor pode ser acrescido em até 8 vezes quando ofertada na forma minimamente processada (Silva et al., 2009; CALBO, 2001).

O objetivo desse trabalho foi avaliar as características microbiológica e físico químicas, a taxa respiratória e a produção de etileno em pedaços de abóbora minimamente processados, submetidos a campos elétricos pulsado e armazenados a 5 °C por 15 dias.

2. Material e métodos

2.1 Preparo da amostra

2.1.1 Abóbora

A variedade de abóbora escolhida para a realização desse trabalho foi a mais produzida e habitual na Catalunha (Espanha): Butternut (*Cucurbita moschata Duchesne ex Poiret*). Todos os frutos foram adquiridos no Mercado Central de Frutas e Hortaliças da cidade de Lleida (Espanha) com grau de maturidade comercial. O transporte até a Universidade de Lleida – Espanha, foi realizado de forma a não provocar danos aos frutos, e uma vez recebidos na fabrica piloto da universidade, os mesmos foram armazenados a uma temperatura de 14 ± 1 °C.

Os pedaços de abóbora foram obtidos a partir de frutos inteiros e sem danos aparentes na casca. Os frutos foram lavados em água corrente, sanitizados por 5 min em solução clorada de 200 mg.L^{-1} , partidos ao meio, se retirou as sementes, e divididos em pedaços de $35 \text{ g} \pm 10$; em alguns pedaços se procedeu também a retirada da casca com o auxílio de uma faca. Uma vez em pedaços, os mesmos foram submergidos em solução clorada de 50 mg.L^{-1} por 2 min. Os pedaços sanitizados foram submetidos aos tratamentos de CEPMI. Pedaços de abóbora não tratados foram utilizados como controle.

2.1.2 Processamento de campo elétrico pulsado de moderada intensidade e armazenamento

Os tratamentos de CEPMI foram realizados em um equipamento *Physics International (San Leandro, CA, USA)*, o qual produz pulsos a partir de um capacitor de $0,1 \mu\text{F}$ com onda exponencial. Uma câmara contendo duas placas paralelas de aço inoxidável foi usada. Pedaços de abóbora com e sem casca foram colocados na câmara de tratamento com água, utilizada como meio condutor.

A aplicação do tratamento foi realizada submetendo os pedaços de abóbora minimamente processados a um campo elétrico pulsado, confinando-o num meio aquoso entre dois eletrodos de maneira que se estabelecesse um campo uniforme entre eles. Os pedaços de abóbora com casca foram submetidos aos campos elétricos de $0,4 \text{ kV/cm}$ e 20 pulsos (T1)

ou 2,0 kV/cm e 5 pulsos (T2), já os pedaços de abóbora sem casca foram submetidos a 0,4 kV/cm e 35 pulsos (T3) (pulsos monopolares de 4 μ S em uma frequência de 0,1Hz). Pedaços de abóbora não tratados, com (CC) e sem casca (CS), foram utilizados como controle.

Os pedaços de abóbora tratados e não tratados foram deixados por 1 hora a temperatura ambiente. Após esse tempo as amostras foram transferidas para bandejas plásticas seladas a quente, e armazenadas a 5 °C por um período de 15 dias. A cada 3 dias eram retiradas aleatoriamente duas bandejas correspondentes a cada tratamento de CEPMI e de amostras não tratadas (com casca e sem casca) para realização das análises. Os tratamentos foram realizados em duas repetições e as análises em triplicata.

2.2 Análises microbiológicas

A contagem de micro-organismos aeróbios mesófilos e psicrófilos foi realizada com um protocolo estabelecido segundo a norma ISO 4833 (1991), e a contagem de fungos filamentosos e leveduras, com a norma ISO 7954 (1988). Em condições estereis, 10 g de pedaço de abóbora minimamente processada, foi homogeneizada durante 2 min com 90 mL de água peptonada 0,1% utilizando uma batidora de haste. Foi preparado um banco de diluições homogeneizando 0,1 mL desta solução com 0,9 mL de água peptonada (0,1%) previamente esterelizada. Uma vez realizado o banco de diluições, as mesmas foram transferidas para placas de petri contendo meio PCA (*Plate Count Agar*), no caso dos micro-organismos mesófilos e psicrófilos; enquanto que para fungos filamentosos e leveduras, o plaqueamento foi realizado em placas de petri contendo meio CGA (*Chloramphenicol Glucosa Agar*). Em cada placa se colocou 0,1 mL da diluição correspondente, espalhadas com a ajuda de uma alça de Drigalski. Finalmente, as placas foram armazenadas a 30 ± 1 °C durante três dias para a contagem dos aeróbios mesófilos e 5 ± 1 °C para os psicrófilos, e no caso de fungos filamentosos e leveduras a 25 ± 1 °C durante 5 dias.

2.3 Análises físico-químicas

2.3.1 Sólidos solúveis

Utilizou-se um refratômetro digital de bancada (ATAGO, RX-1000, ATAGO-CO, LTD, Japan) conforme normas da AOAC (2005). Os resultados foram expressos em °Brix.

2.3.2 pH

A leitura foi realizada com um potenciômetro eletrônico (Cyber Scan, XS 510, Cingapura) utilizando-se 10 g de polpa diluída em 50 mL de água destilada.

2.3.3 Acidez titulável

Para a análise da acidez titulável pesou-se 10 gramas de polpa e diluiu-se em 50 mL de água destilada, a mistura foi então titulada com NaOH 0,05 N utilizando-se solução alcoólica de fenolftaleína como indicador.

2.3.4 Cor da polpa

A cor da abóbora foi determinada sob temperatura ambiente utilizando um colorímetro Minolta CR-400 (Konica Minolta Sensing, Inc. Osaka, Japan) / Macbeth Colour-Eye 3000 (Macbeth-Kollmorgen Inst Corp., newburg, NY, USA) o qual regula as coordenadas da cor a partir da refletância da mesma. O equipamento foi programado para iluminar a D75 e ângulo de observação de 10°. Foram lidas diretamente no aparelho no modo refletância e utilizando a escala L*, a*, b* (CIELAB) em que "L*" é a luminosidade, "a*" é a intensidade de vermelho/verde e "b*" é a intensidade de amarelo/azul.

2.3.5 Textura

Foram realizadas determinação da firmeza da polpa e análise de perfil de textura. A avaliação da firmeza e do TPA foi realizada utilizando um texturometro TA-TX2 (Stable Micro Systems Ltd, Surrey, UK).

2.3.5.1 Análise da firmeza

Para avaliar a firmeza foram retirados cilindros do centro dos pedaços de abóbora, tais cilindros apresentavam 1,5 cm de diâmetro e 3,0 cm de altura, cada cilindro foi cortado em 3 cubos de 1 cm de altura. Os cubos foram penetrados e seu centro geométrico por uma haste de 4 mm de diâmetro. Para a realização do estudo foram definidos os seguintes parâmetros: pré-teste de velocidade: 2 mm.s^{-1} , teste de velocidade: 2 mm.s^{-1} , velocidade pós-teste: 10 mm.s^{-1} .

2.3.5.2 Análise do perfil de textura (TPA)

Para a análise do perfil de textura (TPA) foram retirados cilindros do centro dos pedaços de abóbora, tais cilindros apresentavam 1,5 cm de diâmetro e 3,0 cm de comprimento. Havia três cilindros de cada pedaço de abóbora. O TPA dos cilindros de abóbora foi realizada comprimindo-os duas vezes até que a amostra atingisse 50% de sua altura original, com uma sonda de 3,5 cm de diâmetro. As variáveis da textura obtidas a partir das medições de força e área foram: dureza = pico de força durante a primeira compressão ciclo (N); coesividade = razão da área de força positiva formada durante a segunda compressão; elasticidade = tempo que decorre entre o final do primeiro ciclo de compressão e o início do segundo ciclo; gomosidade = dureza x coesividade (N) e mastigabilidade = gomosidade x elasticidade (N).

2.4 Análise de gases *headspace* (taxa respiratória e produção de etileno)

A atmosfera gasosa de cada bandeja contendo os pedaços de abóbora foi analisada por cromatografia gasosa segundo (SOLIVA-FORTUNY et al., 2005). Uma amostra de 100 g de abóbora foi envasada em bandejas plásticas seladas, e o conteúdo interno de gases foi aspirado e injetado em um analisador de gases Micro-GC CP 2002 (Chrompack Internacional, Middelburg, Holanda) equipado com um detector de condutividade térmica. Uma amostra de 1,7 mL de gases foi automaticamente retirada da atmosfera *headspace*. O teor de O_2 foi analisado com uma coluna de CP-5A Molsieve (Chrompack International, Middelburg, The Netherlands) (4 m x 0,32 mm,

df = 10 mm) a 55 °C e 90 kPa. Uma coluna PLOT Pora-Q (Chrompack International, Middelburg, The Netherlands) (10 m x 0,32mm, df = 10mm) foi utilizada a 75 °C e 140kPa para a quantificação de CO₂ e etileno (C₂H₄).

2.5 Análise estatística

Os diferentes tratamentos aplicados nos pedaços de abóbora, que variou a intensidade do campo elétrico, número de pulsos, presença ou ausência de casca, e tempo foram feitos em duas repetições e as análises (microbiológica, pH, acidez titulável, sólidos solúveis, cor, textura, análise do perfil de textura (TPA), taxa respiratória e produção de etileno) foram realizadas em triplicata. Para avaliar os efeitos de diferentes parâmetros: intensidade do campo elétrico, número de pulsos, presença ou ausência de casca, e tempo sobre as características físico-químicas e taxa respiratória. Os resultados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e regressão. Para os fatores qualitativos as médias dos valores foram comparadas com o teste de comparações múltiplas de Tukey a 5% de probabilidade. Para o fator quantitativo (tempo) os modelos de regressão foram escolhidos baseados na significância dos coeficientes de regressão. Os sistemas de análise estatística JMP® 8.0.1 (SAS Institute Inc, Cary, NC, USA) e SAS® 9.0 (licenciado pela Universidade Federal de Viçosa) foram utilizados.

3. Resultado e discussão

3.1 Análises microbiológicas

A contagem inicial de bactérias mesófilas (Figura 1 A) nos pedaços de abóbora, foi de aproximadamente 10⁴ UFC.g⁻¹, não variando até o sexto dia de armazenamento a 5°C em todas as amostras analisadas. O aumento desses micro-organismos, ocorreu em menor intensidade nas amostras submetidas aos tratamentos de CEPMI mais intenso (T2). O número e o tipo de micro-organismos presentes em produtos minimamente processados são muito variados e a contagem de bactérias mesófilas nesses produtos após

processamento encontram-se comumente entre 10^3 e 10^9 UFC.g⁻¹ (Nguyen-The e Carlin, 1994; Zhang e Farber, 1996). Nesse trabalho a contagem máxima dessas bactérias foi de 10^7 UFC.g⁻¹, apresentado nas amostras não tratadas com CEPMI ao 15° dia de armazenamento a 5°C. Soliva-Fortuny et al. (2004) também observaram rápido crescimento de bactérias mesofílicas em maçã minimamente processada armazenadas sob diferentes condições de atmosfera modificada.

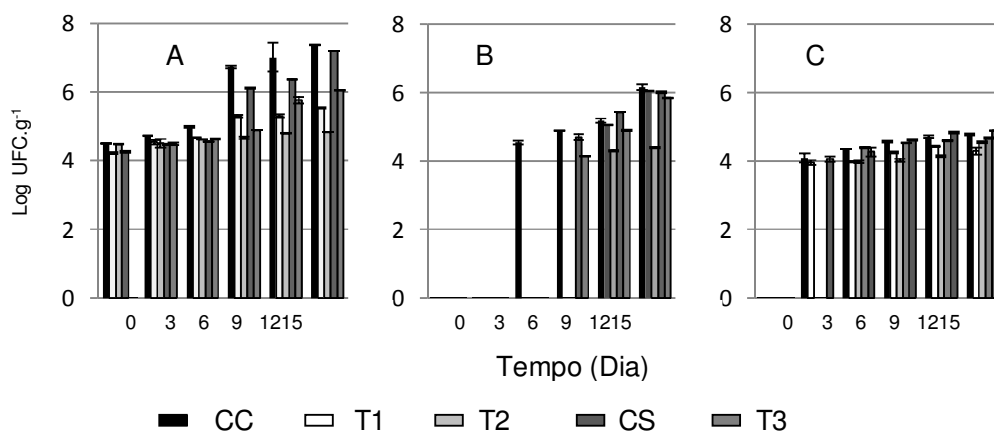


Figura 1. Contagem de micro-organismos em pedaços de abóbora minimamente processados submetidos a campo elétrico pulsado armazenados a 5 °C por 15 dias. A= Bactérias mesófilas, B= Bactérias psicrófilas, C= Leveduras e fungos filamentosos CC= Controle com casca; T1= 0,4 kV/cm-20 pulsos com casca; T2=2,0 kV/cm-5 pulsos com casca; CS= Controle sem casca; T3= 0,4 kV/cm-35 pulsos sem casca

Os pedaços de abóbora apresentam-se sem crescimento de bactérias psicrófilas até o nono dia de armazenamento, exceto para os pedaços de abóbora não tratados com casca (CC) (Figura 1 B), que apresentam esses micro-organismos a partir do sexto dia de armazenamento na ordem de 10^4 UFC.g⁻¹. Ao final do período de armazenamento todas as amostras tratadas e não tratadas apresentaram crescimento microbiológico (Figura 1 B). Pilon et al. (2002), também observou crescimento bactérias psicrotróficas durante todo o período de armazenamento em cenouras minimamente processadas.

O CEPMI não é considerado uma tecnologia de conservação de alimentos, porém com os resultados pode-se observar que o tratamento

apresentou algum efeito deletério quanto a redução no crescimento de bactérias mesófilas e psicrófilas, e de fungos filamentosos e leveduras, uma vez que as amostras tratadas apresentaram menor quantidade desses micro-organismos. Existe a hipótese de que a ação de um campo elétrico de moderada intensidade em organismos vivos está relacionada a uma mudança da atividade respiratória a nível celular (Podolska et al., 2009).

Esta hipótese baseia-se nas seguintes premissas: primeiro, o campo eletromagnético atua somente nas cargas elétricas. A eficiência da ação de um campo sobre os elétrons, devido à sua pequena massa, é pelo menos três vezes maior, do que a apresentada sobre os íons. Em segundo lugar, os elétrons em sistemas vivos estão, como regra geral, em estados fortemente ligados. Portanto, uma baixa intensidade de campo não pode mudar seu estado, exceto pelos elétrons que participam no processo de respiração. Neste caso, os elétrons podem estar num estado de não equilíbrio por um longo intervalo de tempo e, assim, podem ser susceptíveis à ação de um campo de baixa intensidade. Em terceiro lugar, a experiência obtida num estudo sobre o efeito de um campo de 2,0 kV/cm em células de bactéria possibilita afirmar que a ação de um campo eletromagnético fraco em sistemas vivos tem o carácter de limiar, e os chamados efeitos de comutação são observados. Em outras palavras, se o campo elétrico de baixa intensidade exceder um valor limite, o estado de uma célula viva será alterado significativamente (Podolska et al., 2009).

Na Figura 1 C pode-se observar a contagem de fungos filamentosos e leveduras nos pedaços de abóbora ao longo do período de armazenamento a 5 °C por 15 dias. Até o 15º dia de armazenamento, as amostras não apresentaram contagem microbiológica para fungos filamentosos e leveduras acima de 10^5 UFC.g⁻¹.

O processamento mínimo favorece a contaminação de alimentos por micro-organismos, em razão do manuseio e do aumento das injúrias nos tecidos (Wiley, 1994), ao contrário do que ocorre com as frutas e hortaliças intactas, que são parcialmente protegidas da invasão microbiana pela casca (Shewfelt, 1987). Mesmo assim, ainda não existe uma legislação com os limites de contagens toleradas de micro-organismo para frutas e hortaliças minimamente processadas. De acordo com a resolução RDC nº12 de

02/01/01, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) do Ministério da Saúde, a legislação sanitária exige para hortaliças *in natura* ausência de *Salmonella* (em 25 g de amostra), e de no máximo, 10^2 NMP de coliformes a 45 °C para a preservação da saúde pública. E a segundo o Regulamento nº 2073 da Comissão das Comunidades Europeias de 15 de novembro de 2005 (COMUNIDADES EUROPEIAS, 2005) a exigência também é de ausência de *Salmonella* (em 25g de amostra) em frutas e produtos hortícolas pré-cortados (prontos para o consumo). Assim sendo, nesse trabalho as amostras apresentaram-se com características aceitáveis até o 15º dia de armazenamento a 5 °C.

3.2 Análises físico-químicas

Observou-se que a interação entre tratamento e tempo de armazenamento teve efeito significativo nos parâmetros pH, sólidos solúveis, coordenadas de cor a^* e b^* , textura, oxigênio, gás carbônico e etileno, para os pedaços de abóbora tratados com casca. Nos pedaços sem a casca, houve efeito significativo da interação entre tratamento e tempo de armazenamento para os parâmetros sólidos solúveis, acidez titulável, textura, oxigênio e gás carbônico. Os parâmetros cuja interação foi significativa foram realizados o ajustamento dos modelos de regressão para cada tratamento quando o tempo também apresentou efeito significativo. As equações de regressão estão apresentadas na Tabela 1. Para os demais parâmetros analisados (L^* , nos pedaços com e sem casca, acidez titulável nos pedaços com casca. E_pH , coordenadas de cor a^* e b^* e etileno nos pedaços sem casca) não foi verificado efeito significativo da interação, logo o modelo de regressão foi realizado utilizando-se a média dos tratamentos.

Tabela 1. Equações ajustadas das propriedades pH, acidez titulável sólidos solúveis, coordenadas de cor a* e b*, tetura, oxigenio, gás carbonico e etileno para os diferentes tratamento e coeficientes de determinação.

Propriedade	Tratamento	Equações ajustadas/R ²
pH	CC	$y = -0,0265x + 6,6532 / 0,84$
	T1	$y = -0,0403x + 6,7297 / 0,91$
	T2	$y = -0,0618x + 7,25 / 0,87$
Acidez Titulável	CS	$y = 0,0032x + 0,2023 / 0,87$
	T3	$y = 0,0036x + 0,29 / 0,94$
Sólidos Solúveis (°BRIX)	CC	$y = -0,0597x + 12,341 / 0,97$
	T1	$y = 0,0023x + 0,2675 / R^2 = 0,85$
	T2	$y = -0,0741x + 12,509 / 0,91$
	CC	$y = -0,04x + 12,667 / R^2 = 0,93$
	T3	$y = -0,0825x + 13,136 / R^2 = 0,95$
a*	CC	$y = -0,1814x + 16,109 / R^2 = 0,98$
	T2	$y = -0,2501x + 18,667 / R^2 = 0,94$
	T3	$y = -0,1045x + 20,112 / R^2 = 0,85$
b*	CC	$y = -0,2362x + 43,598 / R^2 = 0,93$
	T2	$y = -0,3618x + 45,969 / R^2 = 0,97$
Textura	T2	$y = -0,9245x + 46,497 / R^2 = 0,97$
	CS	$y = -1,0191x + 50,915 / R^2 = 0,95$
Oxigênio	CC	$y = -1,0929x + 18,295 / R^2 = 0,97$
	T1	$y = -1,2194x + 18,671 / R^2 = 0,99$
	T2	$y = -1,0574x + 14,707 / R^2 = 0,87$
	CS	$y = -0,7933x + 17,7 / R^2 = 0,93$
	T3	$y = -0,8447x + 17,285 / R^2 = 0,92$
Gás carbônico	T1	$y = 0,8511x + 1,6801 / R^2 = 0,97$
	T2	$y = 1,2664x + 4,4228 / R^2 = 0,97$
	CS	$y = 0,541x + 4,2337 / R^2 = 0,96$
	T3	$y = 0,5102x + 5,259 / R^2 = 0,96$
Etileno	CC	$y = -3,7575x + 381,05 / R^2 = 0,658$

CC= Controle com casca; T1 = 0,4 kV/cm-20 pulsos com casca
T2=2,0 kV/cm-5 pulsos com casca; CS= Controle sem casca; T3= 0,4 kV/cm-35 pulsos sem casca

O valor médio de pH dos pedaços de abóbora não tratados com casca foi de $6,74 \pm 0,09$, e nos pedaços de abóbora sem casca foi de $7,00 \pm 0,05$. Na Figura 2 (A e B) observa-se a variação no valor de pH em pedaços de abóbora submetidos ao tratamento com campo elétrico pulsado de moderada intensidade e armazenados a 5 °C por 15 dias. Nesse trabalho

ocorreu uma tendência geral de diminuição no valor de pH ao longo do período de armazenamento em todas amostras analisadas.

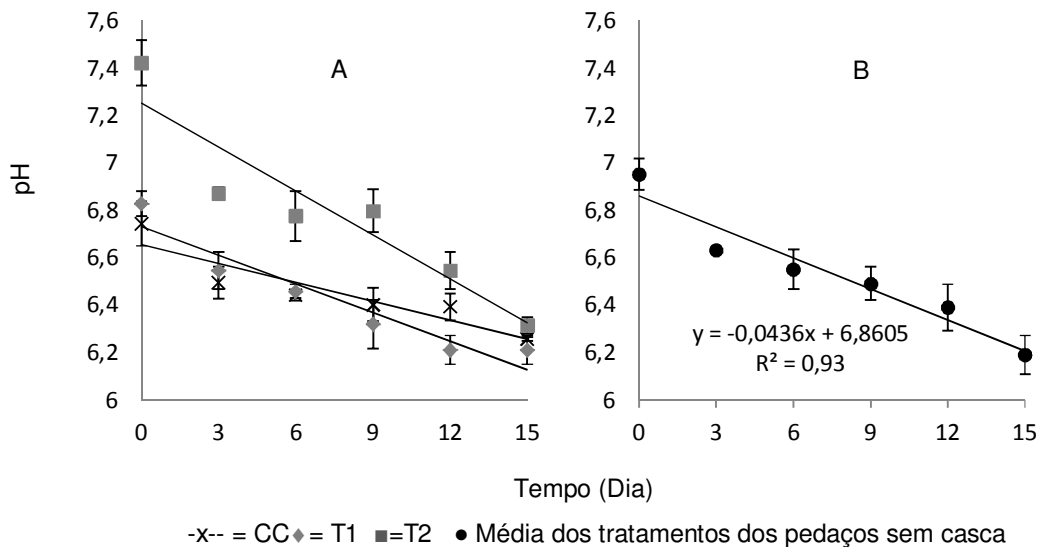


Figura 2. Variação no valor de pH em pedaços de abóbora submetidos ao CEPMI e armazenados a 5 °C por 15 dias.

CC= Controle com casca; T1= 0,4 kV/cm-20 pulsos com casca; T2=2,0 kV/cm-5 pulsos com casca; A = pedaços com casca; B = pedaços sem casca

Nas amostras com casca (Figura 2 A), as que foram submetidas a 2,0 kV/cm (T2) apresentam um valor de pH estatisticamente superior ($p < 0,05$) aos valores observados nas amostras tratadas com 0,4 kV/cm (T1) e na amostra não tratada (CC), durante todo o período de armazenamento, não existindo diferença significativa ($p > 0,05$) entre essas últimas. Nas amostras sem casca (Figura 2 B) não foi verificada interação significativa entre o tempo de armazenamento e o tratamento. O tempo foi um parâmetro significativo, e o valor de pH das amostras tratadas (T3) apresentou-se mais baixos ($p < 0,05$) em relação a amostra não tratada (CS) ao longo do período de armazenamento. Dados semelhantes de redução no valor de pH foram observados em outros produtos minimamente processados, como abacaxi (Sarzi e Durigan, 2002), pedaços de mamão (Argañosa et al., 2008) e cenouras ao final de 10 dias de armazenamento a 5 °C (Alegria et al., 2010).

O tratamento com campo elétrico pulsado causa eletroporação das células vegetais, esse fenômeno provoca saída de compostos intracelulares,

o que poderia justificar o maior valor de pH observado nas amostras submetidas a um maior valor de campo elétrico. A explicação para a diminuição do valor do pH em produtos minimamente processados pode ser relacionado ao aumento da população de bactérias ácido lácticas, conseqüentemente fermentação e presença de subprodutos do processo, tais como os ácidos láctico e acético (Alegria et al., 2010).

Os valores médios de acidez titulável nos pedaços não tratados com casca foi de $0,23 \pm 0,01$ mg de ácido cítrico/100g de amostra fresca, já nos pedaços sem casca não tratados foi de $0,26 \pm 0,003$ mg de ácido cítrico/100g de amostra fresca. Na Figura 3 (A e B) visualiza-se a variação no conteúdo de ácido cítrico nos pedaços de abóbora tratados com CEPMI.

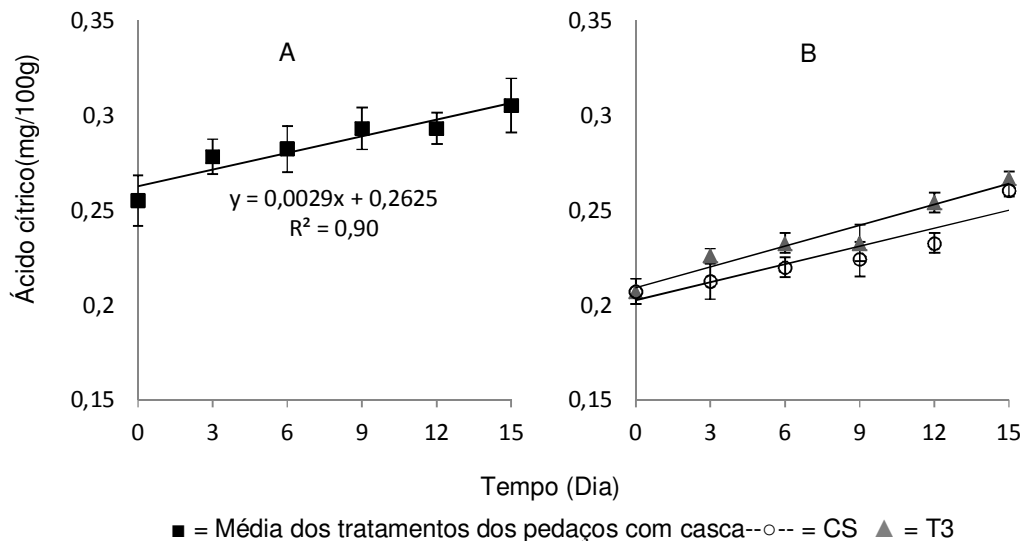


Figura 3. Conteúdo de ácido cítrico em pedaços de abóbora submetidos ao CEPMI e armazenados a 5 °C por 15 dias

CS= Controle sem casca; T3= 0,4 kV/cm-35 pulsos sem casca, A = pedaços com casca; B = pedaços sem casca

Nos pedaços de abóbora com casca (Figura 3 A), ambos os tratamentos de campo elétrico pulsado de moderada intensidade causou aumento significativo ($p < 0,05$) no valor inicial de acidez em relação a amostra não tratada (CC). Porém, entre os pedaços de abóbora com casca submetidos ao tratamento de CEPMI (T1 e T2) não houve diferença significativa ($p > 0,05$). O tempo foi um parâmetro significativo ($p < 0,05$) para todas as

amostras, no entanto não houve interação significativa entre tratamento e tempo de armazenamento.

Nos pedaços de abóbora sem casca (Figura 3 B) logo após o tratamento e durante os primeiros dias de armazenamento não ocorreram variações significativas ($p < 0,05$) da acidez nos pedaços de abóbora submetidos ao CEPMI (T3) em relação a amostra não tratada (CS), porém observa-se um tendência de incremento do conteúdo ácido em ambas.

O aumento na acidez observado nas amostras pode estar relacionado ao crescimento de micro-organismos, os quais diminuem os valores de pH e conseqüentemente fazem aumentar os valores de acidez.

O valor médio de sólidos solúveis para os pedaços não tratados com casca foi de $12,28 \pm 0,6$ °Brix, e nos pedaços sem casca foi de $12,70 \pm 0,11$ °Brix. A variação no conteúdo de sólidos solúveis nos pedaços de abóbora não tratados com e sem casca pode ser visualizada na Figura 4. O conteúdo de sólidos solúveis, das amostras tratadas com CEPMI e das não tratadas, apresenta de uma forma geral, uma tendência a reduzir-se.

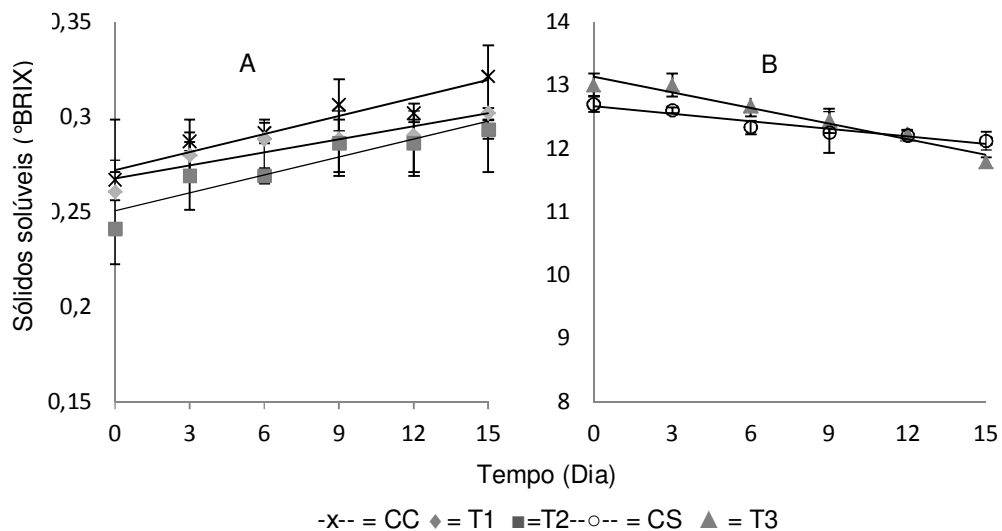


Figura 4. Sólidos solúveis em pedaços de abóbora submetidos ao CEPMI e armazenadas por 15 dias a 5 °C

CC= Controle com casca; T1 = 0,4 kV/cm-20 pulsos com casca T2=2,0 kV/cm-5 pulsos com casca; CS= Controle sem casca; T3= 0,4 kV/cm-35 pulsos sem casca; A = pedaços com casca; B = pedaços sem casca

As amostras tratadas com CEPMI (T1, T2 e T3) não apresentaram variação significativa ($p < 0,05$) ao longo do período de armazenamento em relação as amostras não tratada (CC e CS). Nas amostras sem casca observou-se redução no conteúdo de sólidos solúveis (Figura 4 B) assim como Karacay e Ayhan (2010) em laranja minimamente processada e armazenada sob atmosfera modificada por 25 dias a 4°C, e Alegria et al. (2010) em cenouras minimamente processadas e armazenadas a 5 °C por 10 dias.

A redução do conteúdo de sólidos solúveis pode ser explicada pelo aumento do conteúdo de ácido cítrico nessas amostras (Karacay e Ayhan, 2010) e pela aplicação do processamento, o qual provoca um efeito de lixiviação nos componentes do alimento (Alegria et al., 2010).

O valor médio inicial da luminosidade para as amostras não tratadas com casca (CC) foi de $73,20 \pm 1,01$ e para as amostras sem casca (CS) $68,41 \pm 1,32$. Os valores encontrados nesse trabalho foram semelhantes ao encontrado por Alves et al. (2010), no qual foi detectado uma luminosidade média de 68,97 em abóboras minimamente processadas.

Nesse trabalho, não foi observada interação significativa entre o tempo isoladamente e também não foi significativa a interação entre o mesmo e o tratamento em nível de 5 % de probabilidade, para as amostras com casca e nem para as amostras sem casca. Portanto, podemos inferir que o tratamento de CEPMI não causou alteração no valor L^* dos pedaços de abóbora com casca. É que as reduções observadas foram devido a reações de oxidação naturalmente ocorridas em alimentos minimamente processados durante o período de armazenamento. Além disso, uso de baixas temperaturas para o armazenamento desses produtos pode provocar a degradação da coloração dos tecidos vegetais lesionados (Wiley, 1994). Assim como observado nesse trabalho, Alves et al. (2010) também não verificaram variação significativa do valor L^* durante o armazenamento em diferentes hortaliças minimamente processadas (abóbora, chuchu, cenoura, mandioquinha-salsa).

O valor inicial médio de a^* para os pedaços de abóbora não tratados, com casca (CC) foi de $16,76 \pm 0,49$ e sem casca (CS) foi de $19,90 \pm 0,72$. Na Figura 5 podem ser visualizadas a variação do valor a^* nos pedaços de

abóbora submetidos ao tratamento de campo elétrico pulsado de moderada intensidade e armazenados a 5 °C por 15 dias. Nas amostras com e sem casca o valor de a^* tende a diminuir ao longo do período de armazenamento (Figura 6).

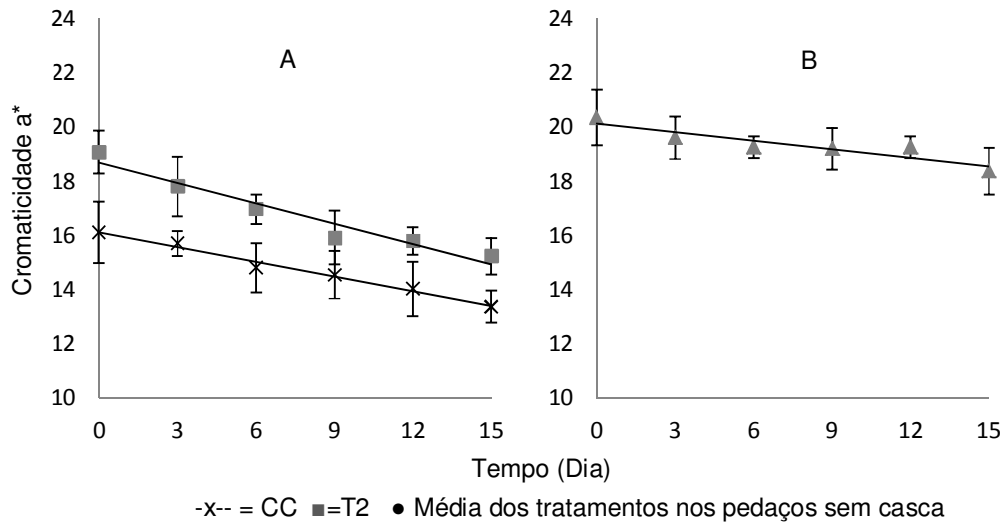


Figura 5. Valor de cor a^* em pedaços de abóbora submetidos CEPMI e armazenados a 5 °C por 15 dias.

CC= Controle com casca; T2=2,0 kV/cm-5 pulsos com casca; CS= Controle sem casca; T3= 0,4 kV/cm-35 pulsos sem casca; A = pedaços com casca; B = pedaços sem casca

Nos pedaços de abóbora com casca (Figura 5 A), as amostras submetidas a T1 o tempo não exerceu efeito significativo nos valores de a^* . Já nos pedaços de abóbora tratados com 2,0 kV/cm (T2) houve incremento no valor de a^* em relação a amostra não tratada (CC), tanto para CC quanto para T2 o tempo e a interação do mesmo demonstraram influencia significativa na coordenada de cor a^* . Aguiló-Aguayo et al. (2010) relataram que o tratamento de campo elétrico favoreceu ao aumento do valor a^* em suco de melancia. Isso pode estar relacionado ao efeito de extração apresentado pelo tratamento de CEPMI, o qual promove maior liberação de carotenos dos tecidos da planta.

A coordenada a^* nos pedaços de abóbora sem casca (Figura 5 B) apresentou redução significativa ($p < 0,05$) em relação ao período de armazenamento (tempo) para a amostra tratada com CEPMI (T3), não

havendo diferença significativa entre a mesma e a amostra não tratada (CS), e não sendo o tratamento um parâmetro significativo. Portanto, a redução não foi ocasionada pelo tratamento de CEPMI, pois as mudança na coloração em produtos vegetais, como hortaliças e frutas, pode ser explicada por alterações provocadas por enzimas oxidativas, como a POD (Aguiló-Aguayo et al., 2010), e também por reações não enzimáticas e variações de pigmentos, como os carotenóides.

A coordenada de cor b^* nos pedaços de abóbora não tratados sem casca (CC) apresentou um valor médio de $44,00 \pm 0,63$ e nos pedaços sem casca (CS) $43,12 \pm 0,59$. Na Figura 6 pode ser visualizada a variação do valor de b^* nos pedaços de abóbora submetidos ao tratamento de campo elétrico pulsado de moderada intensidade e armazenados a $5\text{ }^\circ\text{C}$ por 15 dias.

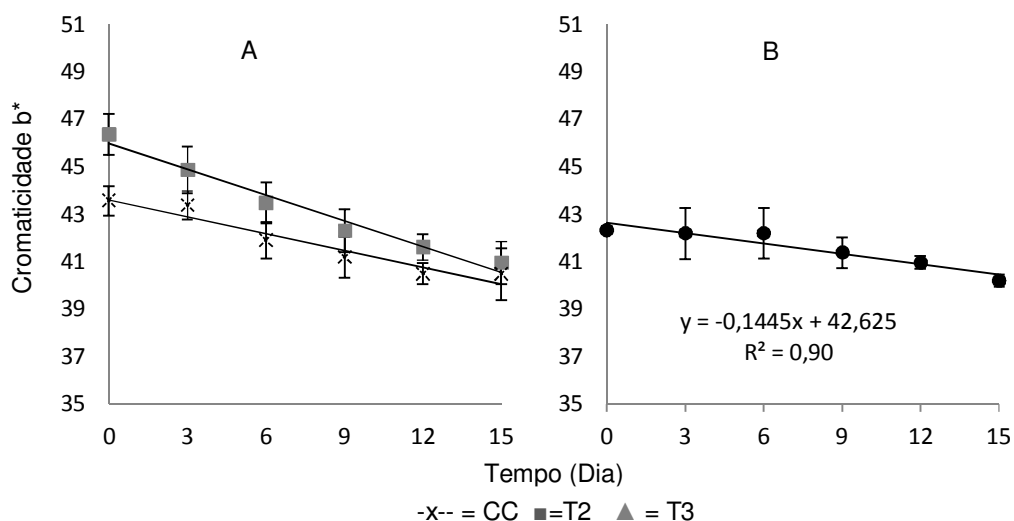


Figura 6. Valor de cor b^* em pedaços de abóbora submetidos ao CEPMI e armazenados a $5\text{ }^\circ\text{C}$ por 15 dias.

CC= Controle com casca; T2=2,0 kV/cm-5 pulsos com casca; T3= 0,4 kV/cm-35 pulsos sem casca; A = pedaços com casca; B = pedaços sem casca

O valor de b^* , em todas as amostras analisadas, apresenta diminuição significativa ($p < 0,05$) ao longo do período de armazenamento, com exceção da amostra T1, sob a qual o tempo não foi significativo em relação a coordenada b^* . Nas amostras tratadas sem a casca (Figura 6 B) não houve efeito significativo da interação entre o tempo e o tratamento. Alves et al. (2010) verificaram que os valores b^* de cenoura, chuchu e mandioquinha-

salsa minimamente processados, reduziram com o período de armazenamento, no entanto, não observaram redução significativa desse valor em abóbora.

Essa redução indica uma diminuição da coloração amarela desses produtos, a qual é frequente em produtos minimamente processados, em razão dos cortes sofridos, podendo ocorrer oxidação enzimática, por meio da interação entre substratos e enzimas e, também, por perdas de carotenóides, que conferem a coloração amarela-alaranjada (Alves et al., 2010). Podemos deduzir que a redução dos valores de b^* não foi causada pelo tratamento de CEPMI e sim pelas operações do processamento mínimo, uma vez que esse valor de cor encontra-se estatisticamente igual nas amostras tratadas e não tratadas.

3.3 Taxa respiratória e produção de etileno

A concentração inicial de oxigênio nos pedaços de abóbora não tratados com casca (CC) foi de $19,31 \% \pm 0,29$ e nos pedaços sem casca (CS) $19,20 \% \pm 0,06$. Na Figura 7 observa-se a variação do conteúdo de oxigênio nos pedaços de abóbora com casca e sem casca submetidos ao CEPMI ao longo do período de armazenamento a $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 15 dias.

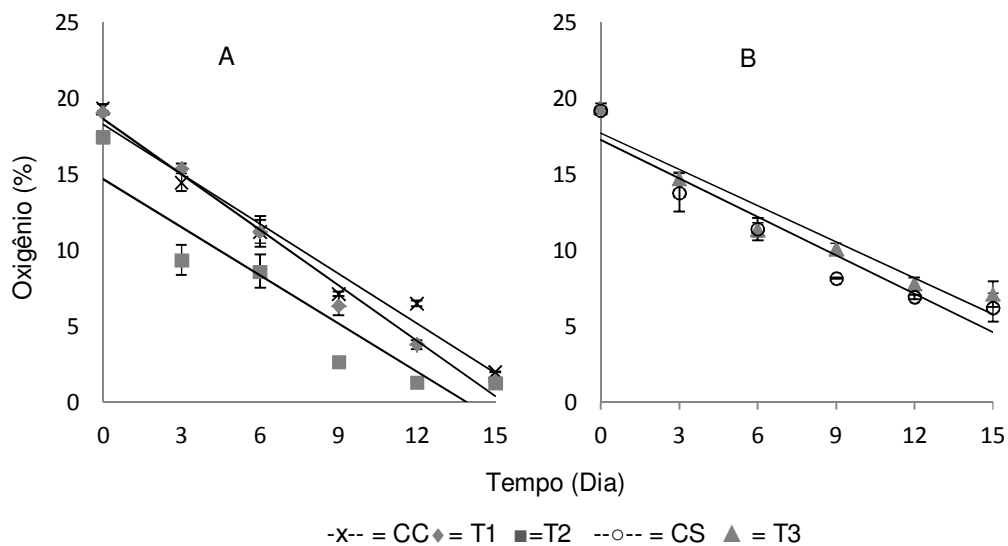


Figura 7. Porcentagem de oxigênio em pedaços de abóbora submetidos aoCEPMI e armazenada por 15 dias a 5°C.

CC= Controle com casca; T1= 0,4 kV/cm-20 pulsos com casca; T2=2,0 kV/cm-5 pulsos com casca; CS= Controle sem casca; T3= 0,4 kV/cm-35 pulsos sem casca; A = pedaços com casca; B = pedaços sem casca

O tratamento com CEPMI causou diferença significativa na concentração de O_2 nos pedaços de abóbora com casca e sem casca (Figura 9). A concentração de O_2 no tempo zero foi inversamente proporcional ao campo elétrico aplicado, ou seja, as amostras não tratada (CC e CS) apresentam maiores concentração de O_2 , seguida das amostras submetidas a 0,4 kV/cm (T1 e T3) e 2,0 kV/cm (T2).

Observa-se (Figura 8) redução na concentração de O_2 , fato esperado, uma vez que os pedaços de abóbora minimamente processados são considerados tecido vivos, os quais matem seu metabolismo ativo e, portanto, continuam a respiração durante o armazenamento, e nesse caso a quantidade de O_2 é gradativamente substituída por CO_2 o qual tende a aumentar, como pode ser observada na Figura 8. Soliva-Fortuny et al. (2005) também observaram redução da concentração de oxigênio e aumento de CO_2 , no período de armazenamento em maçãs minimamente processadas.

A concentração inicial de dióxido de carbono (CO_2) nos pedaços de abóbora não tratados com casca (CC) foi de 1,30 % \pm 0,23 e nos pedaços

sem casca (CS) $5,57 \% \pm 0,97$. Observou-se aumento nas concentrações de CO_2 nos pedaços de abóbora durante o período de armazenamento, fato que demonstra aumento na taxa respiratória (Figura 9).

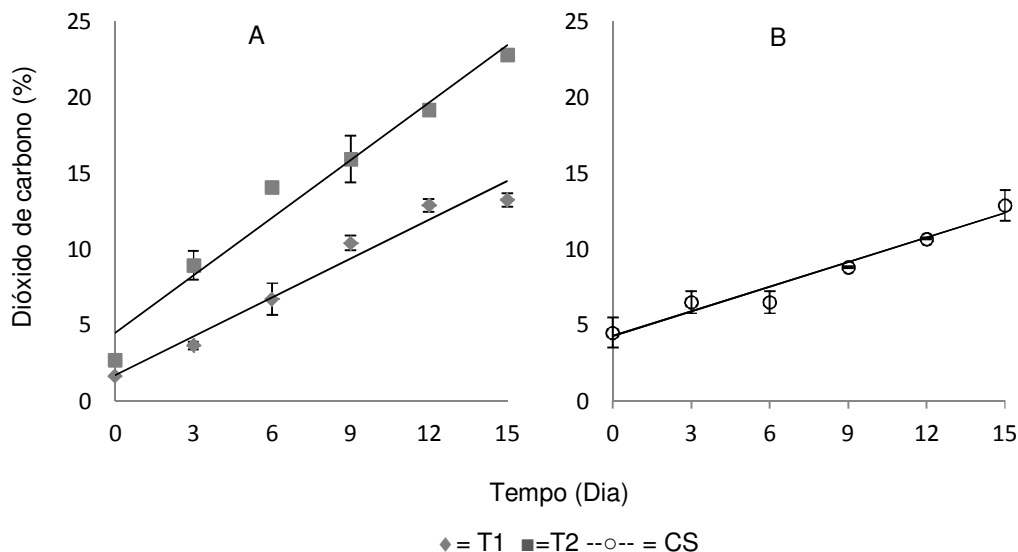


Figura 9. Porcentagem de dióxido de carbono em pedaços de abóbora submetido ao CEPMI 15 dias a 5°C .

CC= Controle com casca; T1= 0,4 kV/cm-20 pulsos com casca; T2=2,0 kV/cm-5 pulsos com casca; CS= Controle sem casca; T3= 0,4 kV/cm-35 pulsos sem casca; A = pedaços com casca; B = pedaços sem casca

O tratamento causou aumento significativo ($p < 0,05$) na taxa respiratória em relação a amostra não tratada, tanto nos pedaços com casca quanto nos sem casca. Sasaki et al. (2004) também observaram aumento na taxa respiratória de abóbora minimamente processada armazenada a diferentes temperaturas (1, 5 e 10°C). No entanto o tempo não foi significativo para esse parâmetro nas amostras CC e T3.

Nos pedaços de abóbora com casca (Figura 9 A) durante o período de armazenamento, observa-se que a amostra submetida a 2,0 kV/cm (T2) apresentou concentração de CO_2 estatisticamente superior ($p < 0,05$) a amostra tratada com 0,4 kV/cm (T1).

Nos pedaços de abóbora sem casca (Figura 9 B), ao tempo zero, a concentração de CO_2 na amostra tratada (T3) é estatisticamente superior a amostra não tratada (CS), porém durante os outros dias de armazenamento

não se observa diferença significativa ($p>0,05$) na concentração de CO_2 entre essas amostras. O incremento na taxa respiratória pode ser causado por crescimento de micro-organismos deterioradores e pelos danos provocados pelo processamento mínimo (Sasaki et al., 2004; Wiley, 1994).

A concentração inicial de etileno nos pedaços de abóbora não tratados com casca (CC) foi de $392,05 \text{ ppm} \pm 8,73$ e nos pedaços sem casca (CS) $447,13 \text{ ppm} \pm 9,00$. Analisando a Figura 10, percebe-se diminuição na concentração de etileno, com exceção do nono dia, onde se observa um pico de aumento desse fito hormônio.

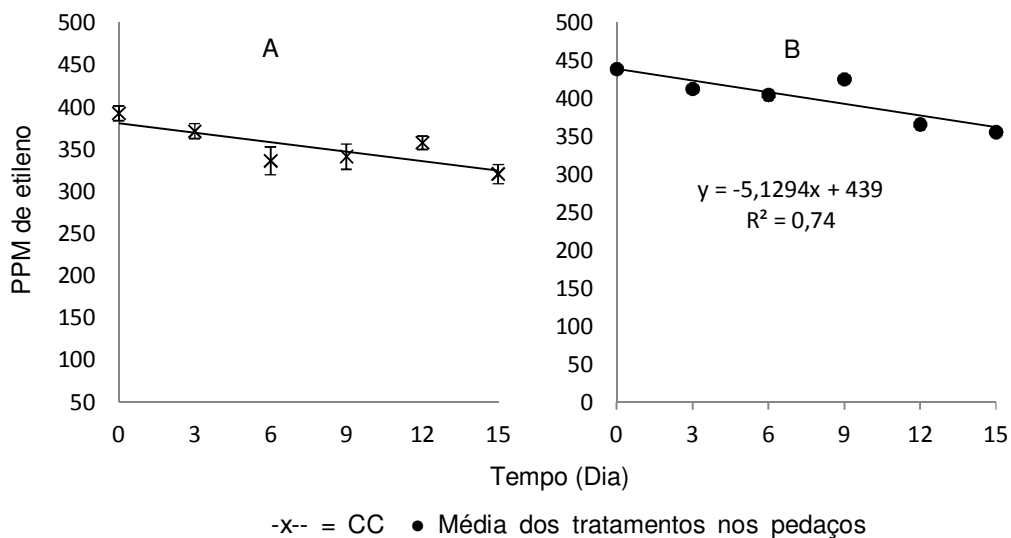


Figura 10. PPM de etileno em pedaços de abóbora submetidos ao CEPMI e armazenados por 15 dias a 5°C .

CC= Controle com casca; A = pedaços com casca; B = pedaços sem casca

Nos pedaços de abóbora tratados com casca e sem casca (Figura 10A) o tempo não foi um parâmetro significativo, sendo apenas para a amostra não tratada (CC). Nas amostras sem a casca (Figura 10 B) não houve interação entre o tratamento e o período de armazenamento. Sasaki et al. (2004) também observaram que abóboras minimamente processadas e armazenadas a 5°C e 10°C apresentaram um pico de produção de etileno, porém isso ocorreu no 5º dia de armazenamento, alcançando valores de 364 ppm e 667,4 ppm, respectivamente. Esse incremento poderia ser provocado pelo estresse do processamento, o qual resulta em aumento da respiração e

produção de etileno (Wiley, 1994). Varoquaux e Wiley (1997) afirmam que a produção de etileno por frutas e hortaliças processadas pode chegar a ser 20 vezes maior, quando comparada com vegetais inteiros.

3.4 Análise da textura e perfil de textura

O valor médio inicial da textura dos pedaços de abóbora não tratados com casca (CC) foi $55,04 \pm 6,18$ N e dos pedaços sem casca (CS) $50,73 \pm 4,57$ N. Na Figura 11 podemos observar a variação da textura nos pedaços de abóbora submetidos ao tratamento de campo elétrico pulsado ao longo do período de armazenamento a 5 °C.

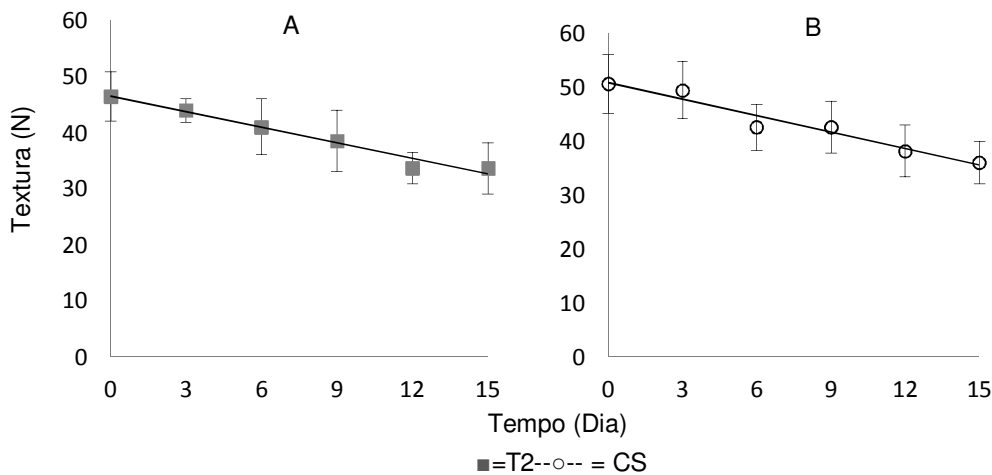


Figura 11. Textura em pedaços de abóbora submetidos ao CEPMI e armazenados a 5 °C por 15 dias.

T2=2,0 kV/cm-5 pulsos com casca; CS= Controle sem casca; A= Com casca; B = sem casca

O tempo não exerceu efeito significativo sob os valores de textura das amostras C1, T1 e T3.

Nos pedaços de abóbora com casca observou-se (Figura 11 A) que no tempo zero (dia zero) os tratamentos (T1 e T2) causaram redução significativa ($p < 0,05$) da textura em relação à amostra não tratada (CC), não havendo diferença significativa entre os tratamentos (T1 e T2) ($p < 0,05$). Nos pedaços de abóbora sem casca o tratamento de CEPMI (T3) causou redução significativa ($p < 0,05$) da textura em relação a amostra não tratada

(Figura 11 B). Apesar da variação da textura ao longo do período de armazenamento, ao 15º dia todas as amostras (tratadas e não tratadas, com e sem casca) apresentam textura estatisticamente igual ($p < 0,05$). A textura está relacionada com características estruturais, fisiológicas e bioquímicas das células vivas, e também com suas mudanças ao longo do tempo. Mudanças que ocorrem na parede celular durante o amadurecimento e armazenamento de produtos estão relacionadas a solubilidade e a degradação da pectina (Gonçalves et al., 2005). Portanto, podemos relatar que a diminuição dessa característica está relacionada com mudanças naturais que ocorrem em produtos minimamente processados e não foi causada, especificamente, pelo tratamento de CEPMI.

A deformação provocada pela aplicação de campo elétrico pulsado em cenoura, batata e maçãs mostram que a aplicação do tratamento com CEPMI por si só não é suficientemente para a diminuir a textura de tecidos vegetais. Porém, o CEPMI permite obter um nível elevado de desintegração das membranas e remover o turgor, que é um componente da textura (Lebovka et al., 2004). Observou-se nesse trabalho que o tratamento mais intenso (T2) promoveu maiores alterações na textura dos pedaços de abóbora durante o período de armazenamento, no entanto, a perda da firmeza também pode ser explicada por alterações da concentração de pectina e por outras mudanças nos componentes da parede celular, tais como celulose, hemicelulose e enzimas (Gonçalves et al., 2005).

O valor médio inicial de dureza nos pedaços de abóbora com casca não tratados (CC) foi de $237,11 \pm 34,96$ N e nos pedaços sem casca (CS) foi de $242,13 \pm 17,03$ N. Na Tabela 2 podemos observar os valores de dureza dos pedaços de abóbora submetidos ao tratamento de CEPMI.

Tabela 2. Valores de dureza (N) de pedaços de abóbora submetidos ao CEPMI

Dia	0	3	6	9	12	15
	Coesividade*					
CC	237,11±34,96 ^a	234,51±23,86 ^{ab}	232,64±37,50 ^{ab}	231,06±23,38 ^{ab}	230,11±12,51 ^{abc}	216,12±24,75 ^{abc}
T1	231,30±17,03 ^{ab}	230,43±21,34 ^{abc}	219,54±16,80 ^{abc}	191,07±15,50 ^{bcd}	186,26±39,39 ^{bcd}	153,25±26,81 ^{fg}
T2	203,88±37,62 ^{abcd}	198,28±29,23 ^{bcd}	173,05±23,16 ^{def}	156,98±25,01 ^{efg}	158,00±40,65 ^{efg}	129,65±10,87 ^g
CS	242,13±17,03 ^{AB}	237,78±24,60 ^{ABC}	203,23±22,21 ^{CD}	162,99±24,43 ^{EF}	155,01±32,95 ^{EF}	134,14±28,23 ^F
T3	255,81±25,91 ^A	213,11±22,98 ^{BC}	172,98±19,21 ^{DE}	168,64±17,52 ^{DEF}	151,03±17,64 ^{EF}	133,74±15,06 ^F

CC= Não tratada com casca; T1=0,4 kV/cm-20 pulsos-com casca; T2= 2,0 kV/cm-5 pulsos-com casca; CS= Não tratada sem casca; T3= 0,4 kV/cm-35 pulsos- sem casca

*Média das repetições ± desvio padrão

As médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si a nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

O tratameto de CEPMI (T2) causou redução significativa ($p < 0,05$) da dureza nos pedaços de abóbora com casca, a partir do sexto dia de armazenamento, em relação a amostra não tratada (CC). Nos pedaços de abóbora sem casca não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre amostra tratada (T3) e a não tratada (CS). A redução da dureza pode estar relacionada à atividade enzimática, as enzimas pectinesterase (PE) e poligalacturonase (PG) têm se mostrado associada com solubilização de pectinase o amolecimento em frutos chineses (*bayberry*) (Yang et al., 2007). Além disso, a alteração na textura após o tratamento com CEPMI, em materiais celulares sólidos, como tecido vegetal e tecidos animais, ocorre devido a plasmólise celular, a qual pode ser explicada pela eletroporação de membranas celulares (Ade-Omowaye et al., 2001) e redução na integridade mecânica da parede celular (Rojas et al., 2001). Outros mecanismos de danos elétricos às paredes das células durante o tratamento com CEPMI não foram bem estudados e são ainda desconhecidas (Bazhal et al., 2003).

O valor médio inicial de elasticidade nos pedaços de abóbora com casca não tratados (CC) foi de $0,57 \pm 0,05$ mm e nos pedaços sem casca (CS) foi de $0,80 \pm 0,10$ mm. Na Tabela 3 visualiza-se os valores de elasticidade dos pedaços de abóbora submetidos ao tratamento de CEPMI armazenados a 5°C por 15 dias.

Não houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre as amostras tratadas com casca (T1 e T2) e as não tratada (CC) (Tabela 3). Nos pedaços de abóbora sem casca, não foi observado efeito significativo do tratamento e do tempo ($p < 0,05$). Portanto, podemos deduzir que a perda na elasticidade foi ocasionada por processos naturais que ocorrem no tecido vegetal de frutos minimamente processados no armazenamento e não devido ao tratamento com CEPMI.

Tabela 3. Valores de elasticidade (mm) de pedaços de abóbora submetidos ao CEPMI

Dia	0	3	6	9	12	15
Elasticidade (mm)*						
CC	0,70±0,11 ^{abc}	0,69±0,07 ^{abc}	0,68±0,13 ^{abc}	0,66±0,07 ^{bcd}	0,63±0,09 ^{bcd}	0,57±0,05 ^{cd}
T1	0,81±0,17 ^a	0,72±0,15 ^{ab}	0,69±0,12 ^{abc}	0,68±0,07 ^{abc}	0,64±0,08 ^{bcd}	0,60±0,09 ^{bcd}
T2	0,72±0,09 ^{ab}	0,70±0,10 ^{abc}	0,70±0,09 ^{abc}	0,68±0,19 ^{abc}	0,61±0,08 ^{bcd}	0,54±0,06 ^d

CC= Não tratada com casca; T1=0,4 kV/cm-20 pulsos-com casca; T2= 2,0 kV/cm-5 pulsos-com casca;

*Média das repetições \pm desvio padrão. As médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si a nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey

O valor médio inicial de coesividade nos pedaços de abóbora não tratados com casca (CC) foi de 0,66±0,13 N e nos pedaços sem casca (CS) foi de 0,93±0,17 N. Na Tabela 4 podemos observar os valores de coesividade dos pedaços de abóbora submetidos ao tratamento com CEPMI.

Tabela 4. Valores de coesividade de pedaços de abóbora submetidos ao CEPMI

Dia	0	3	6	9	12	15
	Coesividade*					
CC	0,66±0,13 ^{bcd^e}	0,59±0,12 ^{cde}	0,54±0,08 ^{ef}	0,52±0,15 ^{ef}	0,51±0,04 ^{ef}	0,49±0,20 ^{ef}
T1	0,92±0,19 ^a	0,76±0,15 ^{abcd}	0,74±0,24 ^{abcd}	0,57±0,14 ^{de}	0,54±0,05 ^{ef}	0,44±0,08 ^{ef}
T2	0,78±0,07 ^{ab}	0,76±0,08 ^{abcd}	0,65±0,13 ^{bcd^e}	0,65±0,93 ^{bcd^e}	0,60±0,16 ^{bcd^e}	0,37±0,07 ^f
CS	0,93±0,17 ^A	0,68±0,18 ^{BCD}	0,68±0,09 ^{BCD}	0,69±0,18 ^{BCD}	0,77±0,14 ^{ABC}	0,48±0,17 ^E
T3	0,94±0,16 ^A	0,79±0,21 ^{AB}	0,66±0,20 ^{BCDE}	0,58±0,09 ^{CDE}	0,56±0,11 ^{DE}	0,51±0,21 ^{DE}

CC= Não tratada com casca; T1=0,4 kV/cm-20 pulsos-com casca; T2= 2,0 kV/cm-5 pulsos-com casca; CS= Não tratada sem casca; T3= 0,4 kV/cm-35 pulsos- sem casca*Média das repetições ± desvio padrão. As médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si a nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey

Nos pedaços de abóbora com casca, o tratamento de CEPMI (T1) causou redução significativo ($p < 0,05$) da coesividade em relação à amostra não tratada (CC). Nos pedaços de abóbora sem casca não existiu diferença significativa ($p > 0,05$) entre a amostra tratada (T3) e a não tratada (CS). A coesividade do tecido pode ser afetada por alteração da constituição da pectina (Beléia et al., 2004) e pela eletroporação das células.

O valor médio inicial de gomosidade nos pedaços de abóbora não tratados com casca (CC) foi de $27,72 \pm 6,45N$ e sem casca (CS) foi de $24,27 \pm 3,51N$. Na Tabela 5 estão representados os valores de gomosidade dos pedaços de abóbora submetidos ao tratamento com CEPMI.

Tabela 5. Valores de gomosidade de pedaços de abóbora submetidos ao CEPMI

Dia	0	3	6	9	12	15
	Gomosidade (N)*					
CC	27,72±6,45 ^a	25,41±5,80 ^{ab}	18,90±2,47 ^{cde}	18,78±1,93 ^{cde}	16,86±2,58 ^{defg}	13,53±1,93 ^{gh}
T1	27,26±5,78 ^a	22,20±4,44 ^{abc}	21,00±2,60 ^{bcd}	18,41±4,02 ^{cdef}	17,66±1,87 ^{cdef}	12,16±2,28 ^{gh}
T2	22,89±6,27 ^{abc}	15,68±3,75 ^{defg}	15,43±1,94 ^{efg}	14,92±2,82 ^{efgh}	12,05±4,52 ^{gh}	10,02±2,44 ^h
CS	24,27±3,51 ^A	16,57±2,98 ^{BCD}	15,68±2,93 ^{BCDE}	15,68±2,93 ^B	14,61±4,05 ^{CDE}	11,80±2,78 ^E
T3	25,36±4,52 ^A	19,75±3,20 ^B	19,62±2,40 ^B	18,37±2,96 ^{BC}	13,14±2,38 ^{DE}	12,67±3,19 ^{DE}

CC= Não tratada com casca; T1=0,4 kV/cm-20 pulsos-com casca; T2= 2,0 kV/cm-5 pulsos-com casca; CS= Não tratada sem casca; T3= 0,4 kV/cm-35 pulsos- sem casca

*Média das repetições ± desvio padrão. As médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si a nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey

Nos pedaços de abóbora com casca não houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre o tratamento de 0,4 kV/cm (T1) e a amostra não tratada (CC), no entanto a gomosidade nos pedaços submetidos a 2,0 kV/cm (T2) foi significativamente ($p < 0,05$) inferior em relação a essas outras amostras (T1 e CC). Nos pedaços de abóbora sem casca não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre a amostra tratada (T3) e a não tratada (CS), portanto o tratamento de 0,4 kV/cm, combinado com 20 ou 35 pulsos, dos pedaços de abóbora com casca e sem casca, respectivamente, não causou alteração significativa na gomosidade. A redução da gomosidade esta diretamente relacionada com a redução da dureza, um a vez que essa característica é utilizada para calcula-la.

O valor médio inicial da mastigabilidade nos pedaços de abóbora não tratados com casca (CC) foi de $17,12 \pm 0,02$ N.mm e nos pedaços sem casca (CS) foi de $17,57 \pm 4,96$ N.mm. Na Tabela 6 observam-se os valores de mastigabilidade ao longo do período de armazenamento a 5°C por 15 dias, encontrados nos pedaços de abóbora submetidos ao tratamento com CEPMI.

O tratamento de 0,4 kV/cm (T1) nos pedaços de abóbora com casca não causou alteração significativa ($p > 0,05$) da mastigabilidade em relação a amostra não tratada (CC), nas amostras submetidas a 2,0 kV/cm (T2) foi significativamente menor. Nos pedaços de abóbora sem casca não houve

diferença significativa ($p>0,05$) entre a amostra tratada (T3) e a não tratada (CS).

Tabela 6. Valores de mastigabilidade de pedaços de abóbora submetidos ao CEPMI

Dia	0	3	6	9	12	15
	Mastigabilidade (N.mm)*					
CC	17,12±4,02 ^{ab}	15,85±4,17 ^{abc}	13,03±1,55 ^{bcdef}	12,38±1,91 ^{cdefg}	11,79±2,21 ^{defghi}	8,44±1,55 ^{hij}
T1	18,93±5,42 ^a	14,65±3,00 ^{bcde}	13,54±2,77 ^{bcde}	13,13±2,26 ^{bcde}	12,03±2,01 ^{cdefgh}	8,86±2,62 ^{fghi}
T2	15,40±5,19 ^{abcd}	10,99±1,27 ^{efghi}	10,02±1,92 ^{efghi}	10,02±1,41 ^{efghi}	8,95±1,96 ^{ghij}	8,21±2,65 ^{ij}
CS	17,57±4,96 ^{AB}	14,19±3,25 ^{BCD}	12,12±3,25 ^{DEF}	11,51±2,65 ^{DEF}	11,24±2,45 ^{DEF}	8,56±2,49 ^F
T3	19,69±5,29 ^A	17,05±3,83 ^{ABC}	13,03±2,83 ^{CDE}	13,03±2,64 ^{BCD}	9,42±2,88 ^{EF}	8,94±3,67 ^{EF}

CC= Não tratada com casca; T1=0,4 kV/cm-20 pulsos-com casca; T2= 2,0 kV/cm-5 pulsos-com casca; CS= Não tratada sem casca; T3= 0,4 kV/cm-35 pulsos- sem casca

*Média das repetições ± desvio padrão. As médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si a nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey

Yang et al. (2007) analisaram propriedades de textura de frutos chineses (*bayberry*) usando análise de perfil de textura (TPA). Assim como observado nesse estudo, esses autores relataram que houve diminuição na firmeza, coesividade, elasticidade e mastigabilidade dos frutos, porém detectaram aumento na adesividade durante o armazenamento, o que corresponde ao amaciamento do tecido vegetal, fenômeno resultante da senescência pós colheita dos frutos. Tem sido bem estabelecido que a textura de frutos está estreitamente relacionada com a estrutura e a composição da parede celular e que o amolecimento dos frutos é a consequência da perda de componentes estruturais da parede celular das estruturas de lamela média (Jackman e Stanley 1995). As operações de processamento mínimo, juntamente com altas concentrações de oxigênio, podem ocasionar hidrólise enzimática de componentes da parede celular, que é uma das principais causas de perda da textura em frutos. Soliva-Fortuny et al. (2002) observaram decréscimo da firmeza de peras minimamente processadas.

Conclusão

Os pedaços de abóbora minimamente processados apresentaram-se microbiologicamente apto para o consumo até o 15º dia de armazenamento

a 5 °C. O tratamento de CEPMI de 0,4 kV/cm nos pedaços de abóbora com casca não promoveu alterações significativas nos teores de pH, sólidos solúveis, acidez titulável, L*, a*, b*, textura, elasticidade, gomosidade, mastigabilidade, concentrações de O₂, CO₂ e etileno. Já nos pedaços com casca submetidos a 2,0 kV/cm não foi alterada a acidez titulável, L*, a*, e a elasticidade. Nos pedaços de abóbora tratados sem casca não foi alterada a acidez titulável, coordenadas de cor (L*, a* e b*), da dureza, dos parâmetros do perfil de textura, concentrações de O₂ e etileno. Conclui-se que tratamento de CEPMI de 0,4 kV/cm e 20 pulsos nos pedaços de abóbora com casca é mais eficiente para manter as características do produto mais semelhantes ao produto não tratado.

O tratamento de campo elétrico pulsado de moderada intensidade pode ser utilizado em abóbora minimamente processada para atender a demanda dos consumidores por produtos práticos, sem alterar significativamente suas características físico-químicas originais.

Agradecimentos

Este estudo foi realizado com apoio financeiro do Instituto Nacional de Investigação e Tecnologia Agrária e Alimentar (INIA, Espanha) através do projeto RTA 2010-00079-C02-02. Agradecemos a "Coordenação de Aperfeiçoamento de Nível Superior" (CAPES) / Brasil, e a "Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais" (FAPEMIG) que forneceu à autora Mirella Lima Binoti uma bolsa de doutorado e agradecemos também à Universidade de Viçosa (UFV).

Referencias bibliográficas

ADE-OMOWAYE, B.; ANGERSBAH, A; TAIWO, K.; KNORR, D. Use of pulsed electric field pretreatment to improve dehydration characteristics of plant based foods. Trends Food Science Technology. v. 12, n. 8, p. 285-95, 2001.

AGUILÓ-AGUAYO, I.; SOLIVA-FORTUNY, R.; MARTÍN-BELLOSO, O. Color and viscosity of watermelon juice treated by high-intensity pulsed electric fields or heat . Innovative Food Science and Emerging Technologies. v. 11, p. 299–305, 2010.

ALEGRIA, C.; PINHEIRO, J.; GONÇALVES, E. M.; FERNANDES, I. MOLDÃO, M.; ABREU, M. Evaluation of a pre-cut heat treatment as an alternative to chlorine in minimally processed shredded carrot. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. v. 11, p. 155–161, 2010.

ALVES, J.A.; VILAS BOAS, E.V.B; SOUZA, E.C.; VILAS BOAS, B. M.; PICCOLI, R.H.Vida útil de produto minimamente processado composto por abóbora, cenoura, chuchu e mandioquinha-salsa. *CiênciaAgrotecnica*. v. 34, n. 1, p. 182-189, 2010.

ANDRADE-CETTO, A.; HEINRICH, M. Mexican plants with hypoglycaemic effect used in the treatment of diabetes. *Journal of Ethnopharmacology*. v. 99, p. 325-348, 2005.

AOAC. 2005. *Official Methods of Analysis*. 18th ed. Assoc. Anal. Chem., Arlington, VA.

ARGAÑOSA, A. C. S.J.; RAPOSO, M. F. J; TEIXEIRA, P.C.M; MORAIS, A.M.M.B. Effect of cut-type on quality of minimally processed papaya. *Journal of Science Food Agriculture*. v.88, p. 2050–2060, 2008.

AZEVEDO-MELEIRO, C. H.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Qualitative and quantitative differences in carotenoid composition among cucurbita *moschata*, *Cucurbita maxima* and *Cucurbita pepo*. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. v. 55, p. 4027-4033, 2007.

BAZHAL, M.I.; NGADI, M.O.; RAGHAVAN, G.S.V.; NGUYEN, D.H. Textural Changes in Apple Tissue During Pulsed Electric Field Treatment. *JFS: Food Engineering and Physical Properties*. *Journal of Food Science*. v. 68, n. 1, 2003.

BELÉIA, A.S.H.; PRUDENCIO-FERREIRA, F.; YAMASHITA, T.M. SAKAMOTO; ITO, L. Sensory and Instrumental Texture Analysis of Cassava (*Manihot Esculenta*, Crantz) Roots. *Journal of Texture Studies*. v. 35, p. 542 - 553, 2004.

BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA – ANVISA. Resolução RDC–12 de 2 de janeiro de 2001 – D.O.U. de 10/01/2001.

COMUNIDADES EUROPÉIAS. Regulamento (CE) nº 2073/2005 da Comissão, de 15 de Novembro de 2005. *Jornal Oficial da União Européia*, n. 338, p. 1-26, 2005.

GÓMEZ-GALINDO, F., SJÖHOLM, I., RASMUSSEN, A.G., WIDELL, S., KAACK, K. Plant stress physiology: opportunities and challenges for the food industry. *Critical Review Food Science Nutrition*. v. 47, p. 749 - 763, 2007.

GONÇALVES, E.M.; BRAZÃO, R.; PINHEIRO, J.; ABREU, M.; SILVA, C.L.M.; MOLDÃO-MARTINS, M. Influence of maturity stage on texture, pectin composition and microstructure of pumpkin 2nd Mercosur Congress on Chemical Engineering 4th Mercosur Congress on Process Systems Engineering. Rio de Janeiro, 2005.

ISO 4833, 1991. Methods for Microbiological Examination of Food and Animal Feeding Stuffs. Enumeration of Micro-organisms. Colony Count Technique at 30 °C. International Standards Organisation, Geneva, Switzerland.

ISO 7954, 1988. General Guidance for Enumeration of Yeasts and Moulds. Colony Count Techni

JACKMAN, R.L.; STANLEY, D. W. Perspectives in the textural evaluation of plant foods. *Trends Food Science and Tecnology*. v. 6, p. 187-194, 1995.

KARACAY, E.; AYHAN, Z. Microbial, physical, chemical and sensory qualities of minimally processed and modified atmosphere packaged “ready to eat” orange segments. *International Journal of Food Properties*. v. 13, p. 960–971, 2010.

LEBOVKA, N. L.; PRAPORSCICA, L.; VOROBIEVA, E. Effect of moderate thermal and pulsed electric field treatments on textural properties of carrots, potatoes and apples. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. v. 5, p. 9 – 16, 2004.

NGUYEN-THE, C.; CARLIN, F. The microbiology of minimally processed fresh fruits and vegetables. *Critical reviews in Food Science and Nutrition*. v. 34, n. 4, p. 371-401, 1994.

PALANIAPPAN, S.; SASTRY, S.K. Electrical conductivity of selected solid foods during ohmic heating. *Journal of Food Process Engering*. v.14, p. 2321-2360, 1991.

PILON, L.; FIGUEIREDO, M.; OETTERER, M. et al. Diretrizes para implantação de agroindústria para processamento mínimo de hortaliças: cenoura e pimentão (compact disc). In. Congresso Brasileiro de Ciência e

Tecnologia de Alimentos, 18., Porto Alegre, 2002. Anais. Porto Alegre: SBCTA, 2002.

PODOLSKA, V.I.; ERMAKOV, V.N.; YAKUBENKO, L.N.; ULBERG, Z.R.; GRYSHCENKO, N.I. Effect of Low-Intensity Pulsed Electric Fields on the Respiratory Activity and Electrosurface Properties of Bacteria. *Food Biophysics*. v. 4, p. 281–290, 2009.

ROJAS, A. M.; CASTRO, M. A.; ALZAMORA, S. M.; GERSHENSON, L. N. Turgor pressure effects on textural behavior of honeydew melon. *Journal of Food Science*. v. 66, n. 1, p. 111-117, 2001.

SASAKI, F. F.; DEL AGUILA, J. S.; GALLO, C.R.; ORTEGA, E.M.M.; JACOMINO, A.P.; KLUGE, R.A. Alterações fisiológicas, qualitativas e microbiológicas durante o armazenamento de abóbora minimamente processada em diferentes tipos de corte. *Horticultura Brasileira*. v. 24, n. 2, p. 170-174, 2006.

SASAKI, F. F.; DEL AGUILA, J. S.; KLUGE, R.A.; ORTEGA, E.M.M.; JACOMINO, A.P.; CERQUEIRA, T.S. Taxa respiratória e produção de etileno de abóboras minimamente processadas em função da temperatura de armazenamento. *Horticultura Brasileira*. v. 22, n.2, p. 391 – 394, 2004.

SHEWFELT, R.L. Postharvest treatment for extending the shelf life of fruits and vegetables. *Food Technology*. v.5, p. 70-80, 1987.

Sarzi, B.; Durigan, J.F. Avaliação física e química de produtos minimamente processados de abacaxi-‘pérola’. *Revista Brasileira de Fruticultura*. v. 24, n. 2, p. 333-337, 2002.

SILVA, A.V.C.; OLIVEIRA, D.S.N.; YAGUIU, P.; CARNELOSSI, M.A.G.; MUNIZ, E.N.; NARAIN, N. Temperatura e embalagem para abóbora minimamente processada. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. v. 29, n.2, p. 391-394, 2009.

SOLIVA-FORTUNY, R.C., GRIGELMO-MIGUEL, N., HERNANDO, I., LLUCH, M.A., MARTÍN-BELLOSO, O. Effect of minimal processing on the textural and structural properties of fresh-cut pears. *Journal of Science Food Agriculture*, v. 82, p. 1682-1688, 2002.

SOLIVA-FORTUNY, R.C.; ELEZ-MARÍNEZ, P.; MARTÍN-BELLOSO, O. Microbiological and biochemical stability of fresh-cut apples preserved by

modified atmosphere packaging. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. v. 5, p. 215–224, 2004.

SOLIVA-FORTUNY, R.C.; RICART-COLL, M.; MARTÍN-BELLOSO, O. Sensory quality and internal atmosphere of fresh-cut Golden Delicious apples. *International Journal of Food Science and Technology*. v. 40, p. 369 – 375, 2005.

Varoquaux, P.; Wiley, R.C. Cambios biológicos y bioquímicos en frutas y hortalizas refrigeradas mínimamente procesadas. In: WILEY, R.C. Frutas y hortalizas mínimamente procesadas y refrigeradas. Zaragoza: Acribia, p. 221-262, 1997.

YANG, Z.; ZHENG, Y.; CAO, S.; TANG, S.; MA, S.; LI, N. Effects of storage temperature on textural properties of chinese bayberry fruit. *Journal of Texture Studies*. v. 38, p. 166–177, 2007.

WILEY, RC. Minimally processed refrigerated fruits and vegetables. New York: Chapman e Hall, 1994. 368p.

ZHANG, S.; FARBER, J.M. The effects of various disinfectants against *Listeria monocytogenes* on fresh-cut vegetables. *Food Microbiology*. v. 13, p. 311-321, 1996.

2.4ARTIGO 4 - Efeito do campo elétrico pulsado de moderada intensidade sob os compostos bioativos e a atividade antioxidante (hidrofílica e lipofílica) de pedaços de abóbora minimamente processados

Resumo

A vida moderna faz com que os consumidores busquem cada vez mais por alimentos práticos e nutritivos, como as frutas e as hortaliças minimamente processadas. Nesse trabalho propomos utilizar campo elétrico pulsado de moderada intensidade (CEPMI) como estressor em pedaços de abóbora minimamente processados e avaliar o seu efeito sob os compostos nutritivos e a atividade antioxidante ao longo de período de armazenamento com o objetivo de obtermos um produto prático e ao mesmo tempo enriquecido em nutrientes. Pedaços de abóbora minimamente processados com casca foram submetidos a 0,4 kV/cm e 20 pulsos (T1) ou 2,0 kV/cm e 5 pulsos (T2), e pedaços de abóbora sem casca a 0,4 kV/cm e 35 pulsos (T3), pedaços de abóbora com (CC) e sem casca (CS) não tratados foram utilizados como controle. As amostras foram armazenadas a 5 °C por 15 dias, a cada três dias foram analisados os compostos relacionados com a saúde (conteúdo de fenóis e flavonóis total, vitamina C, carotenos individuais) e as atividades antioxidantes hidrofílica e lipofílica. Os resultados demonstraram que a aplicação de CEPMI em abóbora minimamente processada promoveu incremento na concentração de compostos fenólicos e flavonóides totais, carotenóides, ao mesmo tempo em que a atividade oxidante hidrofílica foi aumentada e não ocasionou alteração na lipofílica. O tratamento também foi eficaz na manutenção da vitamina C. A utilização de campo elétrico pulsado como tratamento pós-colheita em abóbora minimamente processada representa um meio eficiente para se produzir alimentos mais nutritivos em relação aos mesmos produtos convencionais.

Palavras chave: Compostos nutritivos, Atividade antioxidante, Abóbora minimamente processados, Campo elétrico pulsado

Introdução

Os consumidores estão cada vez mais exigentes quanto à qualidade dos produtos consumidos, e também mais informados sobre a importância de seguir uma dieta saudável e equilibrada com base no consumo de frutas e hortaliças as quais promovem a uma menor predisposição a doenças degenerativas ou envelhecimento dos tecidos (Kris-Etherton et al., 2002). O efeito protetor das frutas e hortaliças tem sido atribuído aos compostos que têm atividade antioxidante (Silva et al., 2010). Esses compostos são essenciais para o corpo, pois apresentam efeitos positivos na saúde (Kris-Etherton et al., 2002). Dentre esses compostos estão os carotenóides, compostos fenólicos, vitaminas, hormônios, e outros (Hounsome et al., 2008).

A vida moderna faz com esses consumidores sejam mais informados quanto aos valores nutritivos e benéficos dos alimentos, porém também faz com que os mesmos não tenham tempo para preparar suas refeições e procurem por facilidades para o seu dia a dia, com isso, cresce a demanda por produtos prontos para comer ou pré-preparados. O mercado de produtos de frutas e hortaliças minimamente processadas aumentou significativamente nas últimas décadas devido ao crescimento na procura pelos consumidores por causa da conveniência, facilidade de preparação e consumo imediato que esses alimentos oferecem. Produtos minimamente processados devem ser mantidos com qualidade no que condiz com a aparência, textura, sabor e valor nutricional semelhante aos produtos frescos. Estes são produtos com tecidos metabolicamente ativos, e portanto, o comportamento fisiológico dos mesmos é afetado pelos procedimentos de preparação e condições de armazenamento (Rocculi et al., 2007).

O tratamento de campo elétrico pulsado, em sua versão de alta intensidade de campo, tem sido amplamente utilizada para a inativação de fungos filamentosos, leveduras e bactérias (Donsi et al., 2007) e também para a inativação das enzimas que afetam a qualidade do alimento, permitindo concomitantemente a conservação das características sensoriais do produto tratado, o que têm permitido incorporá-la como uma tecnologia de conservação emergente (Ceron-Carrillo et al., 2010). Os efeitos do campo elétrico pulsado sobre a fisiologia pós-colheita de frutas e hortaliças é ainda

uma nova e inesgotável área de pesquisa, porém existem relatos de que essa tecnologia, em sua versão de moderada intensidade de campo, afeta o metabolismo, incluindo uma explosão oxidativa com a conseqüente geração de espécies reativas de oxigênio (EROS) (Sabri et al., 1996) e estímulo à produção de metabólitos secundários com propriedades antioxidantes (Gueven e Knorr, 2011).

A utilização de vários tipos de estresse se tem sido proposta como um meio de aumentar os níveis de antioxidantes dos tecidos de plantas na pré-colheita (Atkinson et al., 2005) e na pós-colheita (Schreiner e Huyskens-keil, 2006). Uma vez que os produtos minimamente processados sofrem o estresse do processamento e são alimentos com tecido metabolicamente ativos, uma proposta interessante seria combinar o estresse do processamento com um estresse adicional para estimular a produção de compostos antioxidantes, e assim atender a demanda dos consumidores por produtos ricos em nutrientes e ao mesmo tempo práticos.

Abóbora é uma planta conhecida por suas propriedades medicinais e comestíveis. Dentre as propriedades medicinais, estão a de anti-diabética, antioxidante, anti-cancerígena, anti-inflamatórios e outras (Yadav et al., 2010). Ela contém vários fito-constituintes pertencentes às categorias dos alcalóides, flavonóides, ácido palmítico, ácidos oléico e linoléico. Apesar do alto valor nutritivo, o consumo da abóbora só não é maior devido ao grande tamanho dos frutos e a dificuldade no descascamento, tornando seu preparo muito trabalhoso. Por isso, a oferta desse produto na forma minimamente processada é uma alternativa interessante para o mercado (Sasaki et al., 2006), e mais ainda se esse produto apresentar mais nutrientes.

Nesse trabalho propomos utilizar o tratamento de campo elétrico pulsado de moderada intensidade (CEPMI) como estressor em pedaços de abóbora minimamente processados e avaliar o seu efeito sob os compostos nutritivos e a atividade antioxidante ao longo de período de armazenamento por 15 dias a 5 °C, para se obter um produto prático e ao mesmo tempo com maior quantidade de nutrientes que sua versão convencional (não tratada com CEPMI).

2. Material e métodos

2.1 Amostra

A variedade de abóbora escolhida para a realização desse trabalho foi a mais produzida e habitual na Catalunha (Espanha): Butternut (*Cucurbita moschata Duchesne ex Poiret*). Todos os frutos foram adquiridos no Mercado Central de Frutas e Hortaliças da cidade de Lleida (Espanha) com grau de maturidade comercial e sem danos aparentes na casca. As abóboras foram transportadas até a Universidade de Lleida – Espanha e armazenadas a uma temperatura de $14\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Os pedaços de abóbora foram obtidos a partir de frutos inteiros e sem danos aparentes na casca. Os frutos foram lavados em água corrente, sanitizados por 5 min em solução clorada de 200 mg.L^{-1} , partidos ao meio, se retirou as sementes, e divididos em pedaços de $35\text{ g} \pm 10\text{ g}$; em alguns pedaços se procedeu também a retirada da casca com o auxílio de uma faca. Uma vez em pedaços, os mesmos foram submergidos em solução clorada de 50 mg.L^{-1} por 2 min. Os pedaços sanitizados foram submetidos aos tratamentos de CEPMI. Pedaços de abóbora sem tratamento foram utilizados como controle.

2.2 Processamento e armazenagem

Os tratamentos de CEPMI foram realizados em um equipamento fabricado *Physics International (San Leandro, CA, USA)*, o qual produz pulsos a partir de um capacitor de $0,1\text{ }\mu\text{F}$ com de onda exponencial. Uma câmara contendo duas placas paralelas de aço inoxidável foi usada. Pedaços de abóbora com e sem casca foram colocados na câmara de tratamento com água, a qual foi utilizada como meio condutor.

A aplicação do tratamento foi realizada inserindo os pedaços de abóbora minimamente processados na câmara de tratamento, os mesmos foram submetidos aos campos elétricos pulsados, confinando-o num meio aquoso (utilizada como meio condutor) entre dois eletrodos de maneira que se estabelecesse um campo uniforme entre eles. Os pedaços de abóbora com casca foram submetidos aos campos elétricos de $0,4\text{ kV/cm}$ e 20 pulsos (T1) ou $2,0\text{ kV/cm}$ e 5 pulsos (T2), já os pedaços de abóbora sem casca foram submetidos a $0,4\text{ kV/cm}$ e 35 pulsos (T3) (pulsos monopolares de $4\mu\text{Sem}$

uma frequência de 0,1Hz). Pedacos de abóbora não tratados, com (CC) e sem casca (CS), foram utilizados como controle.

Os pedacos de abóbora tratados e não tratados foram deixados por 1 hora a temperatura ambiente. Após esse tempo as amostras foram transferidas para bandejas plástica seladas a quente, e armazenadas a 5 °C por um período de 15 dias. A cada 3 dias eram retiradas aleatoriamente duas bandejas correspondentes a cada tratamento de CEPMI e de amostras não tratadas (com casca e sem casca) para realização das análises. Os tratamentos foram realizados em duplicata e as análises em triplicata.

2.3 Determinações do conteúdo total de compostos fenólicos e flavonóides totais.

2.3.1 Extração

Foram preparados extratos metanólicos como descrito por Patras et al. (2009) com algumas modificações. Foram adicionados 5 mL de metanol 80% a 0,5 g de amostra liofilizada, a solução foi homogeneizada por 2 min a 10200 rpm usando um (Ultraturrax – IKA + 25 digital - Germany). As amostras foram então centrifugados por 15 min a 15008 x g (centrifuga Avanti TMJ- 25, Beckman Instruments Inc., Fullerton, CA, EUA). O sobrenadante foi filtrado através de um filtro de papel nº1 Whatman. Ao resíduo sólido foram acrescentados mais 5 mL de metanol 80% e os processos de homogeneização, centrifugação e filtragem foram repetidos. Os extratos metanólicos foram unidos em um balão volumétrico e o conteúdo completado para de 10 mL. O extrato metanólico obtido foi utilizado para análise de compostos fenólicos total e flavonóides totais.

2.3.2 Fenóistotais

O conteúdo total de fenóis (CTF) foi determinado de acordo com Patras et al. (2009) usando o reagente Folin-Ciocalteu. 0,5 mL de extrato metanólico, 0,5 mL de Folin-Ciocalteu e 2,0mL de Na₂CO₃ 20% foram adicionados a um balão volumétrico e o volume completado para 25mL com água destilada e, em seguida, as amostras foram deixadas no escuro por 60 min à temperatura ambiente. A absorbância da amostra foi lida a 735 nm em espectrofotômetro (CECIL CE2021; Cecil Instruments Ltd., Cambridge, UK),

utilizando uma curva de calibração de ácido gálico (1-40 mg/L) como padrão. Os resultados foram expressos como mg de ácido gálico equivalente por 100 g de peso da amostra fresca.

2.3.3 Flavonoides Totais

O teor de flavonóides totais das amostras foram determinados por espectrofotometria de acordo com Djeridane et al. (2006), com algumas modificações. O método é baseado na formação de um complexo de alumínio-flavonóides, tendo o máximo de absorvidade em 430nm. Uma curva de calibração de rutina (0,2-3,0 mg/L) foi utilizada como padrão. 1,0 mL de extrato metanólico foi homogeneizado com 1,0mL de solução metanólica de cloreto de alumínio 2%. Após a 15 min no escuro a temperatura ambiente, a absorbância foi medida em 430 nm, com um espectrofotômetro (CECIL CE2021; Cecil Instruments Ltd., Cambridge, UK) e os teores de flavonóides foram expressos em mg de rutina /100g de peso da amostra fresca.

2.4 Determinação e quantificação individualizada dos compostos carotenóides mediante HPLC-DAD

O processo de extração, saponificação e quantificação de carotenos individuais ocorreram segundo metodologia descrita por Cortés et al. (2003).

2.4.1 Extração e saponificação de carotenos

Os carotenos individuais foram extraídos de uma amostra de 0,5 g de abóbora liofilizada com 0,025 g terc-butil hidroxil tolueno (BHT); 0,050 g de hidroxicarbonato de magnésio e 35 ml de etanol:hexano (4:3, v/v), a mistura foi mantida sob agitação por 15 min em frasco âmbar sem a presença de luz. Após a extração a amostra foi filtrada á vácuo através de um filtro de papel nº1 Whatman. O resíduo foi filtrado e lavado com 35 mL de etanol/hexano (4:3, v/v), 30 mL de etanol e 50 mL de hexano. Todos os líquidos filtrados foram combinados em um funil de decantação e lavados três vezes com 50 mL de água e duas vezes com 50 mL de solução de NaCl 10%, alternadamente. A fase aquosa foi descartada e a fase orgânica evaporada a 40 °C em rotaevaporador. Posteriormente a evaporação, o resíduo foi

reconstituído e saponificado com 10 mL de dietil éter e 10 mL de KOH metanólico (0,5 M) com BHT 0,1% (p/v), a solução foi mantida em agitação por 35 min sob atmosfera inerte (N₂) em temperatura ambiente e protegida da luz. Após a saponificação, foi adicionado 20 mL de dietil éter, e a solução foi lavada como descrito anteriormente. Para garantir que a água seria totalmente eliminada, foram adicionados 10 mL de etanol absoluto e evaporados a 45 °C em rotoevaporador. O resíduo seco foi dissolvido em 4 mL de dietil éter e colocados em um frasco de vidro âmbar, o solvente foi evaporado com N₂, e a amostra foi armazenada a -35 °C até o momento da análise. Para a determinação cromatográfica, o resíduo foi reconstituído em 1,0 mL de metanol éter metílico:terc-butil - TBME (7:3, v / v).

3.4.2 Condições cromatográficas

O sistema HPLC foi equipado com um controlador 600E e um detector de absorvância 717 (Waters, Milford, MA), trabalhando em 460 nm. As amostras foram introduzidas em uma coluna de fase reversa C18 Waters Spherisorb® ODS2 (5 µm) de aço inoxidável (4,6x 250 mm) através auto injector e equipado com um loop de amostra (20 µL). A vazão foi fixada em 1,0mL / min a 30°C. As colunas foram eluidas com as fases móveis de solução metanólica 0,1 M acetato de amônio e TBME. Os carotenóides foram quantificados por comparação com padrões externos de β-caroteno, α-caroteno, β-caroteno, zeaxantina, luteína e β-criptoxantina.

3.5 Vitamina C

3.5.1 Extração da vitamina C

O procedimento de extração foi baseado em um método descrito por Odriozola-Serrano et al. (2007) com algumas modificações. Uma porção de abóbora liofilizada de 0,5 g foi adicionada em 10mL de uma solução contendo 45 g/L de ácido metafosfórico e 7,2g/L de DTT (DL-1,4-Dithiothreitol). A mistura foi homogeneizada (Ultraturrax – IKA + 25 digital-Germany) por 2 min, 10200 rpm em banho de gelo, posteriormente centrifugada (centrifuga Avanti™ J-25, Beckman Instruments Inc., Fullerton, CA, USA) a 15008 x g por 15 min a 5 °C. O sobrenadante foi filtrado através de um filtro de papel Whatman n^o 1. A amostra foi, então, refiltrada por uma

membrana Milliporede 0,45µm e congelada a -35°C até o dia da análise em HPLC.

3.5.2 Condições cromatográficas

O sistema HPLC foi equipado com um controlador 600E e um detector de absorvância 486 (Waters Milford, MA) trabalhando em 254 nm. As amostras foram introduzidas na coluna em frações de 25 µL através de um injetor manual. A separação do ácido ascórbico foi realizada com uma coluna de fase reversa C18 Spherisorb® ODS2 (5 µm) de aço inoxidável (4,6 centímetros mm x 250 mm). A fase móvel utilizada foi uma solução de 0,01% de ácido sulfúrico com pH ajustado a 2,6, a vazão foi fixada em 1,0 mL / min, a temperatura ambiente. Para a quantificação de ácido ascórbico da amostra foi construída uma curva padrão com sete níveis de calibração de ácido ascórbico (0, 2, 5, 10, 50, 100, 500 mg/L).

3.6 Atividades antioxidantes: hidrofílica e lipofílica

A atividade antioxidante hidrofílica e lipofílica dos pedaços de abóbora foram avaliados após uma extração constituída de três etapas utilizando um método validado por Pinilla et al. (2005). Primeiro, 10 mL de tampão fosfato 0,1 M – pH 3, foram adicionados a 0,5g de amostra liofilizada, que foram então homogeneizados (Ultraturrax -IKA+25digital-Germany) a 10200 rpm por 2min em banho de gelo. A mistura foi centrifugada por 15 min a 29416 x g, 5°C (Avanti™ J-25, Beckman Instruments Inc., Fullerton, CA, EUA), o sobrenadante foi filtrado e mantido no escuro. Em seguida, o sedimento foi homogeneizado com 10 mL de tampão fosfato 0,1M - pH7,4 e centrifugado nas mesmas condições anteriores. O extrato aquoso foi obtido mesclando as duas porções extraídas. O extrato orgânico (lipofílico) foi obtido adicionando 10 mL de tetrahydro furano (THF) ao sedimento restante das extrações aquosas, a amostra foi então homogeneizada, e em seguida centrifugada a 15008 x g por 15 min a 5 °C. Os sobrenadantes foram medidos separadamente como extrato orgânico e extrato aquoso.

A atividade antioxidante das amostras foi avaliada utilizando o método 2,2-difenil-1,1-picrilhidrazil (DPPH) de acordo com Azizah et al. (2009) com pequenas modificações. A atividade de eliminação do radical hidrofílico (H-

RSC) e a atividade de eliminação radical lipofílico(L-RSC) foram avaliados através da reação ocorrida numa mistura constituída por alíquotas de extrato aquoso ou extrato orgânico, e uma solução metanólica de DPPH (0,0025%) após 30 min no escuro a temperatura ambiente.

A absorvância foi medida em 515nm utilizando espectrofotômetro (CECIL CE2021; Cecil InstrumentsLtd., Cambridge, UK). Os resultados foram expressos em porcentagem de redução do DPPH inicial. Aplicando um teste da seguinte forma:

$$\text{DPPH efeito de redução(\%)} = [(A_0 - A) / A_0] \times 100$$

Onde A₀ é a absorvância do controle em t= 0 min, e A_t é a absorção do antioxidante em t=15min.

2.7 Análise estatística

Os diferentes tratamentos aplicados nos pedaços de abóbora, que variou a intensidade do campo elétrico, número de pulsos, presença ou ausência de casca, e tempo foram feitos em duas repetições e análises (conteúdo de fenóis e flavonóis total, vitamina C, carotenos individuais e as atividades antioxidantes - hidrofílica e lipofílica) foram realizadas em triplicata. Para avaliar os efeitos de diferentes parâmetros: intensidade do campo elétrico, número de pulsos, presença ou ausência de casca, e tempo sobre as características físico-químicas e taxa respiratória. Os resultados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e regressão. Para os fatores qualitativos as médias dos valores foram comparadas com o teste de comparações múltiplas de Tukey a 5% de probabilidade. Para o fator quantitativo (tempo) os modelos de regressão foram escolhidos baseados na significância dos coeficientes de regressão. Os sistemas de análise estatística JMP® 8.0.1 (SAS Institute Inc, Cary, NC, USA) e SAS® 9.0 (licenciado pela Universidade Federal de Viçosa) foram utilizados.

4. Resultado e discussão

Observou-se que a interação entre tratamento e tempo de armazenamento teve efeito significativo nos parâmetros pH, sólidos solúveis, coordenadas de cor a^* e b^* , textura, oxigênio, gás carbônico e etileno, para os pedaços de abóbora tratados com casca. Nos pedaços sem a casca, houve efeito significativo da interação entre tratamento e tempo de armazenamento para os parâmetros sólidos solúveis, acidez titulável, textura, oxigênio e gás carbônico. Os parâmetros cuja interação foi significativa foram realizados o ajustamento dos modelos de regressão para cada tratamento quando o tempo também apresentou efeito significativo.

4.1 Conteúdo de Fenóis total (CFT)

O conteúdo inicial de fenóis nos pedaços de abóbora não tratados com casca (CC) foi de $13,24 \pm 0,06$ mg de ácido gálico/100g de amostra fresca e nos pedaços sem casca (CS) foi de $10,93 \pm 0,08$ mg de ácido gálico/100g de amostra fresca. Os CFT estão presentes tanto na polpa quanto na casca do fruto, fato perceptível quando ao analisar a diferença do conteúdo desse nutriente nos pedaços de abóbora com e sem a casca. Na Figura 1 visualiza-se a variação do CFT nos pedaços de abóbora submetidos ao tratamento de CEPMI armazenados por 15 dias a 5 °C. As equações de regressão e os coeficientes de determinação estão apresentados na Tabela 1.

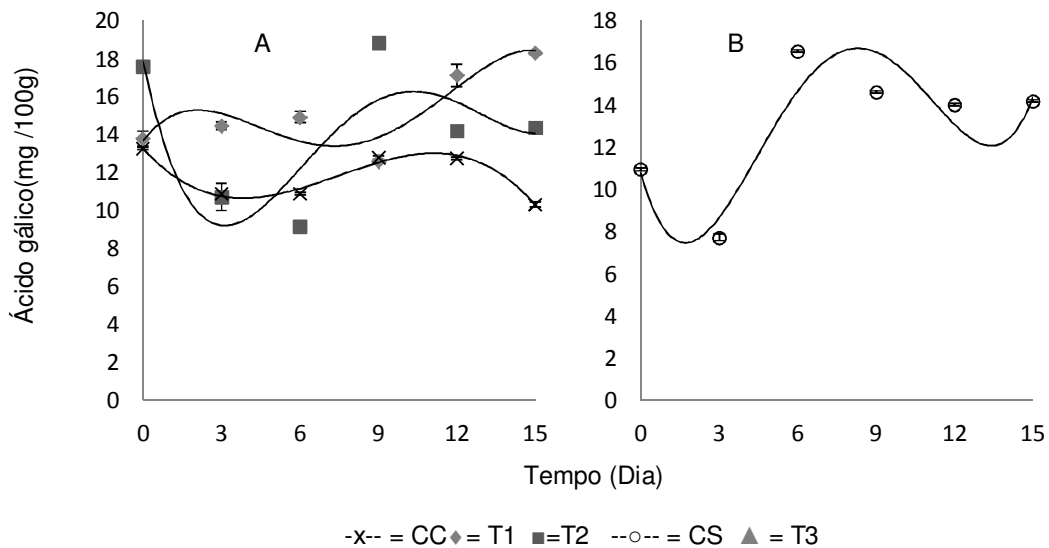


Figura 1. Conteúdo de fenóis total em pedaços de abóbora submetidos ao CEPMI e armazenados por 15 dias a 5 °C. (A=pedaços de abóbora com casca; B=pedaços de abóbora sem casca) CC= Controle com casca; T1= 0,4 kV/cm-20 pulsos com casca; T2=2,0 kV/cm-5 pulsos com casca; CS= Controle sem casca;

Nos pedaços de abóbora com casca tratados (Figura 1 A) com 0,4 kV/cm (T1), se observa um pico de concentração de CFT ao 15° dia, nesse momento ocorre um incremento significativo ($p < 0,05$) de 34,22% em relação a amostra não tratada (CC). Nos pedaços de abóbora submetidos a 2,0 kV/cm (T2) com casca, o comportamento foi semelhante, ocorreu um pico de incremento significativo ($p < 0,05$) de 46,77 % em relação a amostra não tratada (CC) ao 9° dia de armazenamento.

Tabela 1. Equações ajustadas das propriedades fenóis totais, flavonóis totais, vitamina C e atividade antioxidante hidrofílica e lipofílica, para os diferentes tratamento e coeficientes de determinação.

Propriedade	Tratamento	Equações ajustadas/R ²
Fenóis	CS	$y = -0,0121x^3 + 0,2722x^2 - 1,5486x + 13,26 / R^2 = 0,98$
	T1	$y = -0,002x^4 + 0,0637x^3 - 0,6103x^2 + 1,7909x + 13,646$ $R^2 = 0,82$
	T2	$y = 0,0034x^4 - 0,1293x^3 + 1,5975x^2 - 6,6145x + 17,876$ $R^2 = 0,6735$
	CS	$y = -0,5147x + 15,545 / R^2 = 0,92$
	CC	$y = 0,0003x^4 - 0,0075x^3 + 0,0594x^2 - 0,0381x + 0,6295$ $R^2 = 0,98$
Flavonóis	T1	$y = -0,0004x^3 + 0,0008x^2 + 0,0998x + 1,0837$ $R^2 = 0,99$
	T2	$y = -0,0002x^4 + 0,0078x^3 - 0,0925x^2 + 0,404x + 0,8203$ $R^2 = 0,94$
	CS	$y = 1E-04x^4 - 0,0034x^3 + 0,0383x^2 - 0,1592x + 1,1622$ $R^2 = 0,99$
	T3	$y = 0,0004x^4 - 0,0128x^3 + 0,1549x^2 - 0,7065x + 1,9431$ $R^2 = 0,99$
	CC	$y = -0,1169x + 4,0373 / R^2 = 0,91$
Vitamina	T1	$y = -0,288x + 7,2582 / R^2 = 0,87$
	T2	$y = -0,2162x + 4,1881 / R^2 = 0,90$
	CS	$y = -0,1588x + 5,1196 / R^2 = 0,94$
	T3	$y = -0,2325x + 5,9301 / R^2 = 0,88$
	CC	$y = -0,0006x^4 + 0,0289x^3 - 0,4888x^2 + 2,6813x + 85,027$ $R^2 = 0,99$
Atividade antioxidante hidrofílica	T1	$y = -0,0008x^4 + 0,0333x^3 - 0,4874x^2 + 2,3768x + 85,29$ $R^2 = 0,99$
	T2	$y = -0,001x^4 + 0,0359x^3 - 0,4785x^2 + 2,3743x + 85,785$ $R^2 = 0,99$
	CS	$y = -0,0004x^4 + 0,02x^3 - 0,3155x^2 + 1,59x + 87,131$ $R^2 = 0,97$
	T3	$y = -0,0021x^4 + 0,0699x^3 - 0,7854x^2 + 3,0869x + 86,507$ $R^2 = 0,98$
	CC	$y = -0,0753x^3 + 1,8548x^2 - 13,871x + 76,049$ $R^2 = 0,99$
Atividade antioxidante lipofílica	T1	$y = -0,0101x^4 + 0,3046x^3 - 2,7524x^2 + 5,9255x + 58,095$ $R^2 = 0,94$
	T2	$y = -0,0085x^4 + 0,2457x^3 - 2,0394x^2 + 3,0252x + 59,984$ $R^2 = 0,88$
	CS	$y = 0,0133x^4 - 0,468x^3 + 5,5244x^2 - 24,636x + 76,796$ $R^2 = 0,9945$
	T3	$y = 0,0117x^4 - 0,4187x^3 + 5,0305x^2 - 22,709x + 74,09$ $R^2 = 0,99$
	CC	$y = -0,0753x^3 + 1,8548x^2 - 13,871x + 76,049$ $R^2 = 0,99$

CC= Controle com casca; T1= 0,4 kV/cm-20 pulsos com casca; T2=2,0 kV/cm-5 pulsos com casca; CS= Controle sem casca

As reduções iniciais seguidas de incremento e nova redução do componente antioxidante em análise, em ambas as amostras (T1 e T2) poderiam ser explicadas pelo fato de que os danos provocados pelos

estresses, do corte e do tratamento com CEPMI, ocasionam inicialmente, uma explosão de espécies reativas de oxigênio, o que leva a uma resposta de defesa da planta, a qual se dá através da utilização dos compostos antioxidantes presentes na planta para neutralizar os radicais livres, portanto causa redução dos CFT. Posteriormente, os danos estimulam as vias de síntese de metabólitos secundários, a fim de auxiliar na defesa, o que faz aumentar o CFT (Sabri et al., 1996; Gueven and Knorr, 2011). Deduz-se que, devido ao fato da amostra submetida a 0,4 kV/cm ter sofrido um tratamento de CEPMI menos intenso, as respostas fisiológicas de defesa da planta tardariam mais a acontecer, por isso o pico de concentração desse nutriente ocorreu ao 15º dia de armazenamento para as amostras submetidas a 0,4 kV/cm e ao 9º dia para aquelas tratadas com 2,0 kV/cm.

Nos pedaços de abóbora sem casca (Figura 1 B) submetidas ao tratamento de CEPMI (T3), também ao nono dia de armazenamento, ocorreu um pico de incremento de CFT significativo ($p < 0,05$) de 22,66 % em relação a amostra não tratada (CS). A casca poderia ter exercido algum efeito protetor contra o estresse, e por isso, uma intensidade de campo elétrico mais baixo em pedaços de abóbora sem a casca teria produzido efeito semelhante a um campo elétrico mais alto aplicado em amostras com a casca (T2). Porém estudos mais específicos precisam ser realizados para esclarecer esse efeito. O tempo não foi significativo quanto ao conteúdo de fenóis totais. Por isso não esses dados não são mostrados no gráfico. A produção de metabólitos secundários mediante a indução de estresses também foi realizada com sucesso em cultivos celulares (YE et al., 2004) e, mais recentemente, em produtos vegetais (GÓMEZ-GALINDO et al., 2009).

4.2 Conteúdo de flavonóis total

O conteúdo de flavonóis total nos pedaços de abóbora não tratados com casca (CC) foi de $0,64 \pm 0,009$ mg de rutina/100g de amostra fresca e nos pedaços sem casca (CS) foi de $1,16 \pm 0,016$ mg de rutina/100g de amostra fresca. As equações de regressão estão apresentadas na Tabela 1.

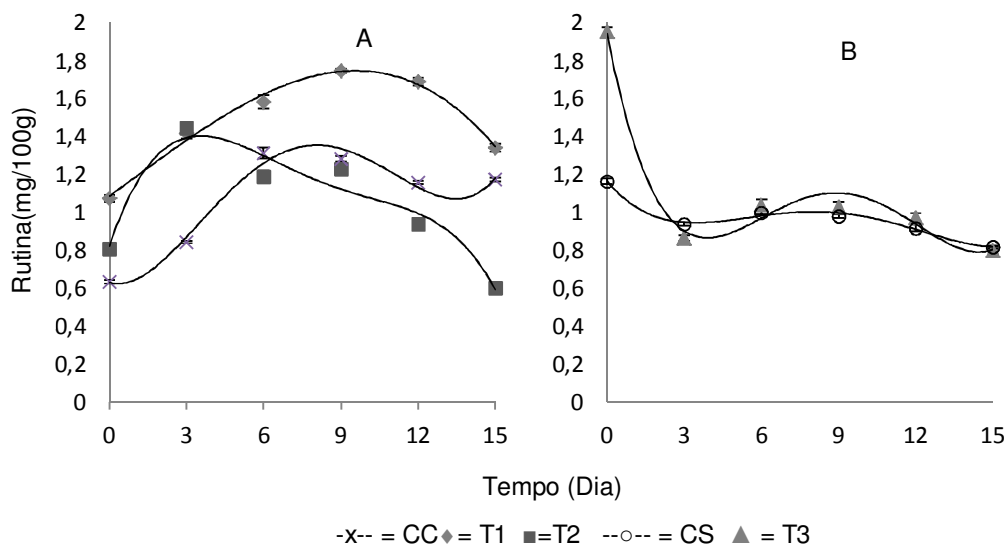


Figura 2. Conteúdo de flavonóis total em pedaços de abóbora submetidos ao CEPMI e armazenados por 15 dias a 5 °C. (A=pedaços de abóbora com casca; B=pedaços de abóbora sem casca) CC= Controle com casca; T1= 0,4 kV/cm-20 pulsos com casca; T2=2,0 kV/cm-5 pulsos com casca; CS= Controle sem casca; T3= 0,4 kV/cm-35 pulsos sem casca

Nos pedaços de abóbora com casca (Figura 2 A), logo após o tratamento de 0,4 kV/cm (T1) e 2,0 kV/cm (T2) observou-se incremento significativo ($p < 0,05$) de 68,8% e 27,40%, respectivamente, e ao terceiro dia ocorreu aumento de 67,06 % e 70,59 %, respectivamente, no conteúdo de flavonóis totais em relação a amostra não tratada (CC). Esses resultados estão de acordo com Gueven e Knorr (2011), esses autores confirmaram a eficiência da aplicação de CEPMI como indutor de vias de metabolismo secundário, os autores induziram a síntese de isoflavonas em culturas de células de soja. Nos pedaços de abóbora sem casca (Figura 2 B), logo após o tratamento observou-se um incremento de 68,10 % na amostra tratada (T3) em relação a amostra não tratada (CS) ($p < 0,05$). Ao longo do período de armazenamento ocorreu redução desse nutriente em ambas as amostras, não havendo diferença estatística entre o conteúdo apresentado por elas.

O estresse causado pelo corte e pelo CEPMI podem desencadear a produção de compostos flavonóides totais, pois já foi estudado que o estresse abiótico gera danos celulares que desencadeia a produção de compostos bioativos, dentre esses estresses estão fatores físicos, como

corte, CEPMI, alta pressão hidrostática, irradiação, etc; e também fatores ambientais, como mudança de temperatura e luminosidade. Já foi relatado que o conteúdo de compostos fenólicos, flavonóides, antocianinas e atividade antioxidante de suco de frutas é consideravelmente influenciados pelo estresse causado por diferença de temperatura de crescimento da planta (Wang and Zheng, 2001). Temperaturas de refrigeração e diferentes condições de irrigação também foram estudadas e demonstraram influenciar na acumulação de isoflavonas em sementes de *Glycinemax* (Bennett e Yu, 2004). Estresses provocados pela temperatura e déficit de água são considerados estresses abióticos, assim como o estresse provocado pelo CEPMI, portanto, deduz-se que as respostas das plantas serão semelhantes.

4.3 Vitamina C

O conteúdo inicial de vitamina C nos pedaços de abóbora com casca (CC) foi de $4,02 \pm 0,36$ mg de ácido ascórbico / 100 g de amostra fresca e nos pedaços de abóbora sem casca (CS) foi de $5,05 \pm 0,02$ mg de ácido ascórbico / 100 g de amostra fresca. Na Figura 3 podemos visualizar o conteúdo de vitamina C ao longo do período de armazenamento, nos pedaços de abóbora, com e sem casca, submetidos ao tratamento de CEPMI. Observa-se que o conteúdo de vitamina C apresentou redução estatisticamente significativa ($p < 0,05$) ao longo do período de armazenamento em todas as amostras analisadas. As equações de regressão estão apresentadas na Tabela 1.

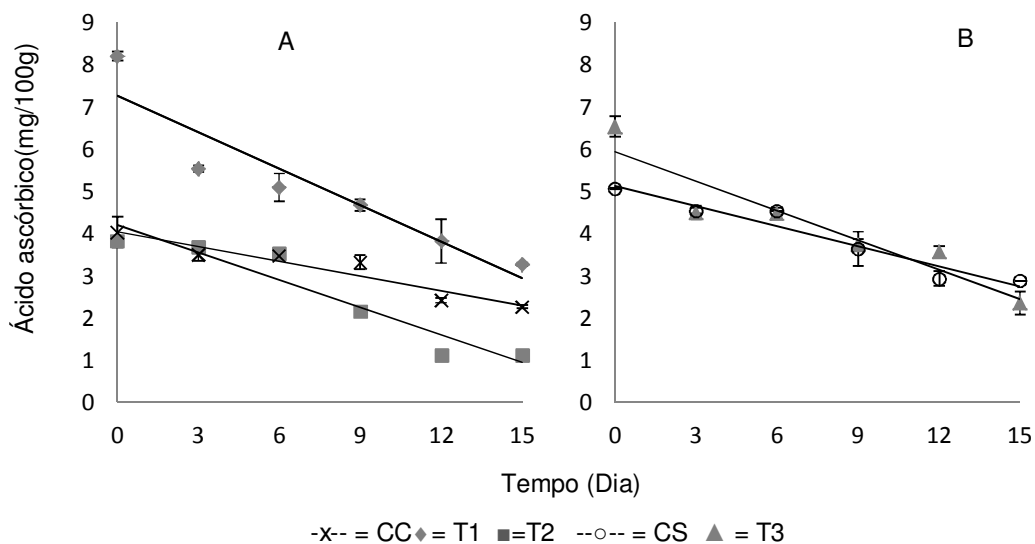


Figura 3. Vitamina C em pedaços de abóbora submetidos ao CEPMI e armazenados por 15 dias a 5 °C. (A=pedaços de abóbora com casca; B=pedaços de abóbora sem casca) CC= Controle com casca; T1= 0,4 kV/cm-20 pulsos com casca; T2=2,0 kV/cm-5 pulsos com casca; CS= Controle sem casca; T3= 0,4 kV/cm-35 pulsos sem casca

Nos pedaços de abóbora com casca (Figura 3 A) observou-se que no tempo zero o conteúdo de vitamina C nas amostras submetidas ao tratamento de 0,4 kV/cm (T1) apresentou-se duas vezes maior ($p < 0,05$) do que nas amostras não tratadas (CC) e do que naquelas tratadas com 2,0 kV/cm (T2) (Figura 3 A), e manteve-se superior durante todo o período de armazenamento. Ao final do período de armazenamento, o conteúdo de vitamina C nos pedaços de abóbora processados com 2,0 kV/cm (T2) apresentou-se estatisticamente menor ($p < 0,05$) do que as amostras não tratadas (CC).

A vitamina C é extremamente sensível, e pode ser afetada por diversos fatores como luz, oxigênio, temperatura, pH e a enzimas degradativas, e isso justifica as perdas observadas nesse estudo. Além disso, o tratamento com CEPMI é uma forma de estresse, e portanto desencadeia nas plantas respostas biológicas como a ativação dos mecanismos de defesa. As plantas possuem mecanismos para proteger a célula e as estruturas subcelulares dos efeitos das espécies reativas de oxigênio utilizando sistemas antioxidantes enzimáticos e não-enzimáticos, que são encontrados

em diferentes organelas como cloroplastos, mitocôndrias e peroxissomos (Pang e Wang, 2008). Entre os sistemas antioxidantes não-enzimáticos, atuam a glutathiona, o ácido ascórbico (vitamina C) e os compostos fenólicos. Portanto, o estresse ocasiona perda da vitamina C. A partir desse relato, podemos respaldar as maiores perdas observadas nas amostras submetidas ao tratamento de maior intensidade (T2).

Nos pedaços de abóbora sem casca submetida ao CEPMI (T3), o conteúdo de vitamina C apresentou-se estatisticamente ($p < 0,05$) superior ao da amostra não tratada (CS) no tempo zero (Figura 3 B). Durante o período de armazenamento, ambas as amostras apresentam redução desse nutriente, não havendo diferença significativa entre elas ($p < 0,05$). O maior conteúdo de vitamina C nas amostras tratadas logo após o processamento (tempo zero) poderia ser explicado pelo fato de que a aplicação de CEPMI em células biológicas acima de um limiar pode resultar em eletroporação da parede ou membrana celular. Este processo leva a um aumento da permeabilidade das paredes celulares e mais fácil liberação do conteúdo intracelular (Knorr e Angersbach, 1998).

4.4 Atividade Antioxidante

4.4.1 Atividade Antioxidante Hidrofílica (AAH)

A atividade antioxidante hidrofílica inicial dos pedaços de abóbora não tratados com casca (CC) foi de $85,01 \pm 0,12$ % e dos pedaços de abóbora sem casca (CS) de $87,01 \pm 0,67$ %. Na Figura 4 visualiza-se a atividade antioxidante dos pedaços de abóbora, com e sem casca, submetidos ao tratamento de CEPMI. As equações de regressão estão apresentadas na Tabela 1.

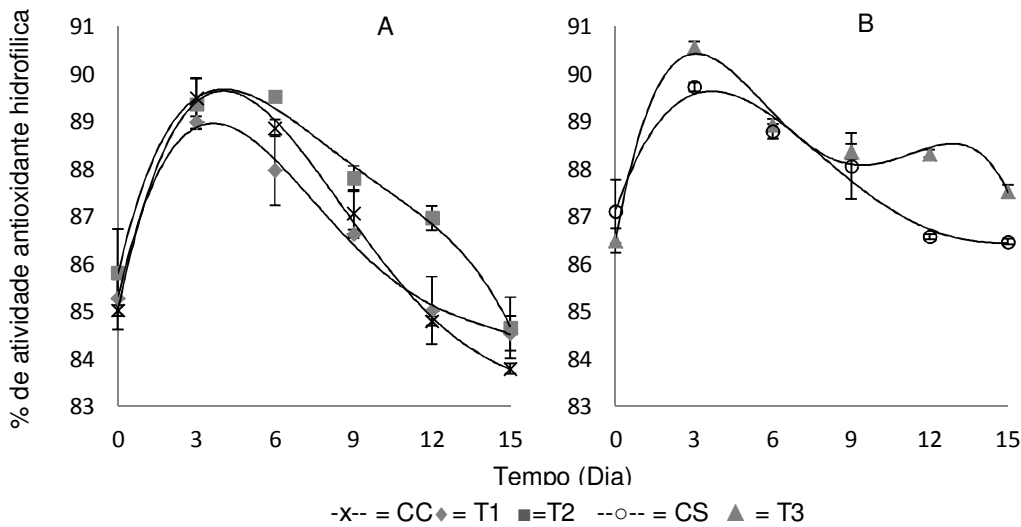


Figura 4. Atividade antioxidante hidrofílica de pedaços de abóbora submetidos ao CEPMI e armazenados por 15 dias a 5 °C. (A=pedaços de abóbora com casca; B=pedaços de abóbora sem casca) CC= Controle com casca; T1= 0,4 kV/cm-20 pulsos com casca; T2=2,0 kV/cm-5 pulsos com casca; CS= Controle sem casca; T3= 0,4 kV/cm-35 pulsos sem casca

A AAH das amostras estudadas apresenta um incremento ao terceiro dia de armazenamento e em seguida tende a diminuir. Nos pedaços de abóbora com casca ocorreu um incremento de 3% da AAH em todas as amostras, não havendo diferença estatística entre elas, já nas amostras sem casca a amostra CEPMI-tratada (T3) apresentou um incremento significativo de 4% na AAH, em relação a amostra não tratada (CS). Nesse estudo observou-se um incremento de flavonóis totais ao terceiro dia de armazenamento nos pedaços de abóbora com casca (Figura 2). Kenny e Beirne (2010) também observaram incremento da atividade antioxidante total de cenouras armazenadas a 4 °C por 8 dias e submetidas a outro estresse físico, o descascamento mecânico. Nesse estudo, a partir do sexto dia de armazenamento a AAH decresce, e continua diminuindo ao longo do período de armazenamento em todas as amostras.

A redução da atividade antioxidante pode estar relacionada com a redução da vitamina C (Figura 3), esse nutriente é o antioxidante hidrossolúvel mais importante entre aqueles presentes nas células que contribuem com a defesa antioxidante contra o estresse. Além disso, a

redução da atividade antioxidante pode ser devido às perdas provocadas pelo próprio processamento mínimo, o qual pode afetar o conteúdo, a composição, a atividade e a biodisponibilidade dos antioxidantes (Robles-Sánchez et al., 2007).

4.4.2 Atividade Antioxidante Lipofílica (AAL)

A AAL inicial nos pedaços de abóbora não tratados com casca (CC) foi de $75,95\% \pm 0,56\%$ e nos pedaços sem casca (CS) $76,93\% \pm 0,13\%$. A AAL apresenta de uma forma geral, tendência a diminuir aos primeiros dias de armazenamento e posteriormente tende a manter-se sem alterações significativas (Figura 5). Nesse estudo não foi observada nenhuma relação entre as alterações dos conteúdos dos compostos antioxidantes lipofílicos analisados (carotenóides) e a AAL (Figuras 5). As equações de regressão estão apresentadas na Tabela 1.

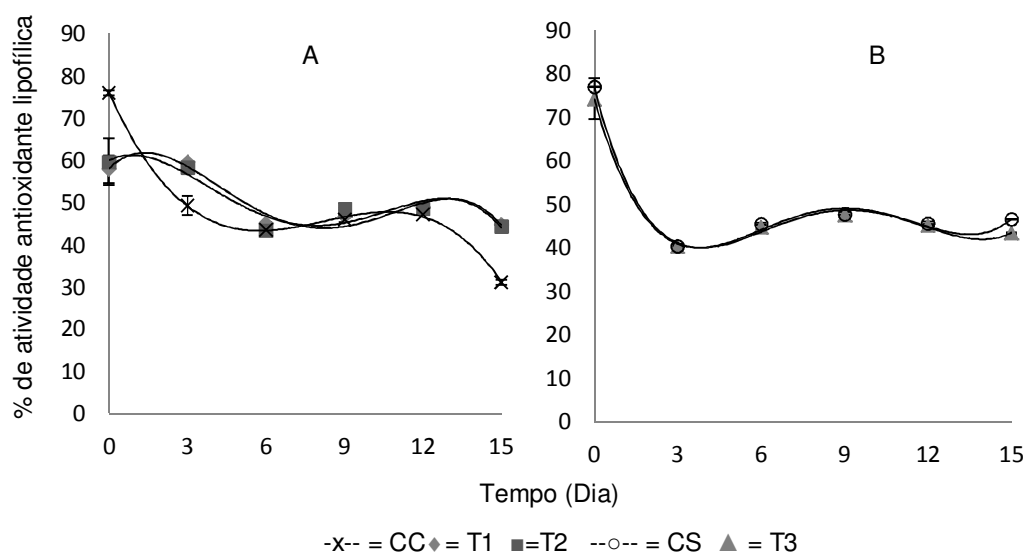


Figura 5. Atividade antioxidante lipofílica de pedaços de abóbora submetidos ao CEPMI e armazenados por 15 dias a 5 °C. (A=pedaços de abóbora com casca; B=pedaços de abóbora sem casca) CC= Controle com casca; T1= 0,4 kV/cm-20 pulsos com casca; T2=2,0 kV/cm-5 pulsos com casca; CS= Controle sem casca; T3= 0,4 kV/cm-35 pulsos sem casca

Os tratamentos de CEPMI (T1 e T2) nos pedaços de abóbora com casca (Figura 5) ocasionou redução estatisticamente significativa da CAL logo após sua aplicação (tempo zero) em relação à amostra não tratada (CC).

Entretanto, ao longo do período de armazenamento a amostra não tratada (CC) apresenta maior decréscimo da AAL em relação às amostras submetidas ao tratamento de CEPMI (T1 e T2), podemos então inferir que o tratamento favoreceu a manutenção da AAL. Nos pedaços de abóbora sem casca a CAL diminui em ambas as amostras, tratada (T3) e não tratada (CS), ao longo do período de armazenamento, não havendo diferença significativa entre elas. Assim como relatado anteriormente, a redução da atividade antioxidante pode ser devido às perdas provocadas pelo próprio processamento mínimo, o qual pode afetar o conteúdo, a composição, a atividade e a biodisponibilidade dos antioxidantes (Robles-Sánchez et al., 2007).

4.5 Carotenos individuais

Até o presente estudo não existe relatos na literatura sobre o efeito do campo elétrico de moderada intensidade sobre os carotenos individuais. Nesse estudo podemos observar que de uma forma geral, ocorreu aumento no conteúdo de carotenóides, porém o efeito do tratamento de CEPMI é diferente em cada isômero dependente de sua característica estrutural. O conteúdo inicial dos carotenos nas amostras não tratadas pode ser visualizado na Tabela 2.

Tabela 2. Conteúdo inicial de carotenos e pedaços de abóbora minimamente processados não tratadas com CEPMI

Caroteno	Conteúdo inicial na amostra com casca ($\mu\text{g}/100\text{ g de amostra fresca}$)*			Conteúdo inicial na amostra sem casca ($\mu\text{g}/100\text{ g de amostra fresca}$)*	
	CC	T1	T2	CS	T3
	Cis-anteraxantina	0,195 \pm 0,001	0,285 \pm 0,018	0,230 \pm 0,028	0,265 \pm 0,011
Luteína	0,158 \pm 0,001	0,272 \pm 0,001	0,230 \pm 0,001	0,198 \pm 0,004	0,196 \pm 0,002
Anteraxantina	0,017 \pm 0,000	0,068 \pm 0,001	0,064 \pm 0,001	0,046 \pm 0,000	0,056 \pm 0,001
Zeaxantina	0,493 \pm 0,001	0,679 \pm 0,004	0,624 \pm 0,001	0,518 \pm 0,000	0,517 \pm 0,002
α - cryptoxantina	0,040 \pm 0,001	0,045 \pm 0,002	0,077 \pm 0,001	0,053 \pm 0,003	0,055 \pm 0,000
β - cryptoxantina	0,031 \pm 0,001	0,031 \pm 0,002	0,037 \pm 0,000	0,038 \pm 0,003	0,051 \pm 0,001
α -caroteno	0,916 \pm 0,035	0,803 \pm 0,003	0,728 \pm 0,006	0,667 \pm 0,001	0,652 \pm 0,003
β - caroteno	6,286 \pm 0,481	5,967 \pm 0,226	3,926 \pm 0,240	3,449 \pm 0,021	3,078 \pm 0,080

CC= Controle com casca; T1= 0,4 kV/cm-20 pulsos com casca; T2=2,0 kV/cm-5 pulsos com casca; CS= Controle sem casca; T3= 0,4 kV/cm-35 pulsos sem casca

*Média das repetições \pm desvio padrão

Na Tabela 3 visualiza-se a máxima concentração de cada caroteno após cada tratamento de CEPMI, em relação as amostras não tratadas e seu respectivo dia de ocorrência. De uma forma geral podemos observar que as maiores concentrações de carotenos são apresentadas logo após o tratamento de CEPMI e são mais decorrentes nos pedaços de abóbora tratados com a casca, isso pode ser relacionado com a presença desses nutrientes nessa parte da planta, pois a abóbora contém uma alta concentração de carotenóides na polpa e também na casca (Nawirska et al., 2009).

Tabela 3. Incremento máximo de caroteno nos pedaços de abóbora submetidos CEPMI em relação a amostra não tratada

Caroteno	Incremento máximo de caroteno (%) em relação a amostra não tratada/dia de ocorrência		
	T1	T2	T3
Cis-ateraxantina	46,15	17,95	-
Luteína	72,15	45,57	-
Anteraxantina	300	276,5	21,74
Zeaxantina	37,73	26,57	-
α - cryptoxantina	42,2	92,5	27,9
β - cryptoxantina	70,3	57,9	62,8
α -caroteno	-	-	-
β - caroteno	-	-	-

T1= 0,4 kV/cm-20 pulsos com casca; T2=2,0 kV/cm-5 pulsos com casca; sem casca; T3= 0,4 kV/cm-35 pulsos sem casca

Os tratamentos de CEPMI de 0,4 kV/cm (T1) e 2,0 kV/cm (T2) promoveram incremento significativo ($p < 0,05$) de 46,15% e 17,95% de cis-ateraxantina, respectivamente, nos pedaços de abóbora com casca logo após sua aplicação (tempo zero) em relação a amostra não tratada (CC). Foi observado um pico no conteúdo desse carotenóide do sexto ao nono dia de armazenamento para todas as amostras com casca, porém os valores encontrados não superaram os apresentados ao dia zero. O conteúdo de cis-ateraxantina reduziu-se nas amostras processadas sem a casca durante o período de armazenamento. Porém, as reduções da amostra tratada com CEPMI (T3) são estatisticamente iguais a amostra não tratada (CS).

Os tratamentos de CEPMI de 0,4 kV/cm (T1) e 2,0 kV/cm (T2) promoveram incremento de 72,15 % e 45,57 %, respectivamente, no conteúdo de luteína logo após sua aplicação nos pedaços com casca em relação a amostra não tratada (CC). Nas amostras sem casca tratada (T3) e não tratada (CS) ocorreu redução do conteúdo de luteína não havendo diferença significativa entre elas.

Logo após a aplicação do CEPMI (tempo zero), o conteúdo de anteraxantina aumentou significativamente nos pedaços de abóbora tratados com e sem casca em relação a amostra não tratada, esse aumento foi de

300%, 276,5% e 21,74% para as amostras submetidas a 0,4 kV/cm (T1), 2,0 kV/cm (T2) e 0,4 kV/cm (T3), respectivamente.

O tratamento de CEPMI nos pedaços de abóbora com casca estimulou a bioprodução de zeaxantina, logo após sua aplicação (tempo zero), as amostras submetidas a 0,4 kV/cm (T1) e a 2,0 kV/cm (T2) apresentaram um incremento significativo ($p < 0,05$) de 37,73% e 26,57%, respectivamente, em relação a amostra não tratada (CC). O tratamento de CEPMI na abóbora sem casca não promoveu o incremento do conteúdo de zeaxantina. Ao longo do período de armazenamento esse nutriente diminuiu em todas as amostras analisadas. Díaz-Mula et al. (2011) também observaram perdas do conteúdo de carotenos ao longo do período de armazenamento em ameixas embaladas sob atmosfera modificada, que assim como o CEPMI, também é um tipo de estresse abiótico.

O conteúdo de cis-anteraxantina, luteína, anteraxantina e zeaxantina incrementou-se logo após a aplicação do tratamento de CEPMI (dia zero) nas amostras com casca, fato interessante a ser relatado que todos esses carotenos apresentam semelhanças estruturais, possuindo estruturas cíclicas, com dois anéis e duas hidroxilas livres. Porém mais estudos precisam ser realizados para relacionar com mais clareza essa ligação. O tratamento de CEPMI também pode ocasionar maior liberação dos componentes dos tecidos das plantas, devido aos processos de eletroporação, levando a uma maior quantificação desses nutrientes, e ainda estimular as vias de síntese de compostos antioxidantes (Gómez-Galindo et al., 2007).

As amostras com casca submetidas a 0,4 kV/cm (T1) e a 2,0 kV/cm (T2) apresentam um incremento significativo ($p < 0,05$) de α -cryptoxantina, correspondendo a 12,5 % e 92,5 %, respectivamente, em relação a amostra não tratada (CC), ao dia zero. Ao 12º dia de armazenamento a amostra tratada com 0,4 kV/cm (T1) apresentou um incremento de 42,2%, e a amostra tratada sem casca (T3) apresentou um aumento de 27,9% em relação as amostras não tratadas (CC e CS), respectivamente. Logo após o tratamento (tempo zero) ocorreu um incremento significativo de 16,12% e de 31,58 % nas amostras com casca submetida a 2,0 kV/cm (T2) e sem casca tratada com 0,4 kV/cm (T3), respectivamente, no conteúdo de β -

cryptoxantina em relação as amostras não tratadas (CC e CS). Ao nono dia de armazenamento observou-se um pico de incremento desse carotenóide de 70,3%, 57,9% e de 62,8% nas amostras submetidas a 0,4 kV/cm (T1), 2,0 kV/cm (T2) e 0,4 kV/cm (T3), respectivamente em relação a amostra não tratada (CC e CS).

Os isômeros α e β - cryptoxantina apresentam semelhança estrutural, ambos contem dois anéis e apenas uma hidroxila livre, provavelmente esse fato relaciona-se ao observado de que esses carotenos apresentaram seus picos de concentração mais tardiamente durante o período de armazenamento, ao 9º e ao 12º dia, em comparação aos carotenos que apresentam duas hidroxilas, onde os incrementos máximos foram observados logo após o tratamento com CEPMI.

Observou-se que nas amostras com casca, após o sexto dia todas as amostras apresentam incremento no conteúdo de α -caroteno, não havendo diferença ($p < 0,05$) entre as amostras tratadas (T1, T2 e T3) e as amostras não tratada (CC e CS). Posteriormente, o conteúdo desse nutriente decresce em todas as amostras. Observou-se um pico no conteúdo de β -caroteno ao sexto dia de armazenamento, porém não houve diferença significativa entre as amostras tratadas e não tratadas com casca, e nas sem casca a amostra não tratada apresentou maior conteúdo de β -caroteno. Após esse período todas as amostras apresentaram redução no conteúdo desse nutriente.

A principal causa de perdas de carotenóides em produtos de origem vegetal é a oxidação de sua estrutura insaturada (Kidmose et al., 2002). Estas reduções também podem ser influenciadas pela reduzida concentração de vitamina C, devido as perdas ocorridas nos pedaços de abóbora, a vitamina C apresenta proteção contra a oxidação de carotenóides, ou podemos relatar ainda que os nutrientes presentes no tecido vegetal podem ter sido utilizados para neutralizar os danos provocados pelo estresse. Uma tendência semelhante foi encontrada em carotenóides provitamínicos A de suco de laranja submetidos a diferentes tratamentos de alta pressão hidrostática (Sánchez-Moreno et al., 2003).

Pode-se supor que, de acordo com a estrutura do caroteno, ao se aplicar algumas intensidades de campo elétrico pulsado o tratamento foi capaz de estimular vias de síntese, ou ainda provocar incremento através de outros

carotenóides por alterações estruturais. Os carotenóides são compostos altamente insaturados com um extensosistema de duplas ligações conjugadas e são susceptíveis a mudanças de desaturação, isomerização, ciclização e oxidação durante o processamento e armazenamento (Shi e Le Maguer, 2000; Dutta et al., 2009). Mais estudos precisam ser realizados para esclarecer qual o efeito do CEPMI sobre os diferentes tipos de carotenóides.

Conclusão

Utilizando o tratamento de campo elétrico pulsado em pedaços de abóbora minimamente processados foi possível obter abóboras com maior conteúdo fenóis total, aumento no conteúdo de flavonóis total, melhor retenção de vitamina C, incremento da atividade antioxidante hidrofílica e aumento no conteúdo de carotenóides. Portanto, os resultados demonstraram que a utilização de CEPMI como tecnologia pós-colheita é uma alternativa interessante e eficiente para produção de abóbora minimamente processada mais nutritiva, aliando a praticidade à vantagem de um produto com maiores benefícios à saúde da população.

Agradecimentos

Este estudo foi realizado com apoio financeiro do Instituto Nacional de Investigação e Tecnologia Agrária e Alimentar (INIA, Espanha) através do projeto RTA 2010-00079-C02-02. Agradecemos a "Coordenação de Aperfeiçoamento de Nível Superior" (CAPES) / Brasil, e a "Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais" (FAPEMIG) que forneceu à autora Mirella Lima Binoti uma bolsa de doutorado e agradecemos também à Universidade de Viçosa (UFV).

Referencias bibliográficas

ATKINSON, C. J.; NESTBY, R.; FORD, Y.Y.; DODDS, P.A.A. Enhancing beneficial antioxidants in fruits: A plant physiological perspective. *Biofactors*. v. 23, p. 229 - 234, 2005.

AZIZAH, A. H., WEE, K. C., AZIZAH, O.; AZIZAH, M. Effect of boiling and stir frying on total phenolics, carotenoids and radical scavenging activity of

pumpkin (*Cucurbita moschato*). *International Food Research Journal*. v. 16, p. 45-51, 2009.

BENNETT, J.O.; YU, O.; HEATHERLY, L.G.; KRISHNAN, H.B. Accumulation of genistein and daidzein, soybean isoflavones implicated in promoting human health, is significantly elevated by irrigation. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. v. 52, p. 7574-7579, 2004.

CERON, T.G.; PALOU, E.; LÓPEZ, A.A review: Pulsos eléctricos: Fundamentos y aplicaciones en alimentos. *Temas selectos de Ingeniería de Alimentos*. v.4, n.1, p. 9, 2010.

CORTÉS, C.; ESTEVE, M. J.; FRIÄGOLA, A.; TORREGROSA, F. Identification and Quantification of Carotenoids Including Geometrical Isomers in Fruit and Vegetable Juices by Liquid Chromatography with Ultraviolet-Diode Array Detection. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. v.52, p. 2203 - 2212, 2004.

DÍAZ-MULA, H.M.; ZAPATA, P.J.; GUILLÉN, F.; VALVERDE, J.M.; VALERO, D.; SERRANO, M. Modified atmosphere packaging of yellow and purple plum cultivars. 2. Effect on bioactive compounds and antioxidant activity. *Postharvest Biology and Technology*. v. 61, p. 110 - 116, 2011.

DJERIDANE, A.; YOUSFI, M.; NADJEMI, B.; BOUTASSOUNA, D.; STOCKER, P.; VIDAL, N. Antioxidant activity of some algerian medicinal plant extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*. v. 97, p. 654 - 660, 2006.

DONSI, G.; FERRARI, G.; PATARO, G. Inactivation kinetics of *Saccharomyces cerevisiae* by pulsed electric fields in a batch treatment chamber: the effect of electric field unevenness and initial cell concentration. *Journal of Food Engineering*. v. 78, p. 784 - 792, 2007.

DUTTA, D., CHAUDHURI, U. R., CHAKRABORTY, R. Degradation of total carotenoids and texture in frozen pumpkins when kept for storage under varying conditions of time and temperature. *International Journal of Food and Science Nutrition*. v. 60, p. 17-26, 2009.

GÓMEZ-GALINDO, F.; SJÖHOLM, I.; RASMUSSEN, A.G.; WIDELL, S., KAACK, K. Plant stress physiology: opportunities and challenges for the food industry. *Critical Review Food Science Nutrition*. v. 47, p. 749-763, 2007.

GÓMEZ-GALINDO, F.; DEJMEK, P.; LUNDGREN, K.; RASMUSSEN, A.G.; VICENTE, A.; MORITZ, T. Metabolomic evaluation of pulsed electric field-induced stress on potato tissue. *Planta*. v. 230, p. 469- 479, 2009.

GUEVEN, A.; KNORR, D. Isoflavonoid production by soy plant callus suspension culture. *Journal Food Engineering*. v. 103, p. 237 - 243, 2011.

HOUNSOME, N., HOUNSOME, B., TOMOS, D., EDWARDS JONES, G. Plant metabolites and nutritional quality of vegetables. *Journal Food Science*. v. 79, p. 48 - 65, 2008.

KENNY, O.; BEIRNE, D. O'. Antioxidant phytochemicals in fresh-cut carrot disks as affected by peeling method. *Postharvest Biology Technology*. v. 58, p. 247 - 253, 2010.

KIDMOSE, U.; EDELENBOS, M., NOB_K, R.; CHRISTENSEN, L. P. 2002. Colour stability in vegetables. In D. B. MacDougall (Ed.), *Colour in food: Improving quality*. 179 - 232. Florida, Boca Raton: CRC Press.

KNORR, D.; ANGERSBACH, A. Impact of high-intensity electric field pulses on plant membrane permeabilization. *Trends Food Science and Technology*. v. 9, p. 185-191, 1998.

KRIS-ETHERTON, P.N.; HECKER, K.D.; BONANOME, A.; COVAL, S.M.; BINKOSKI, A.E.; HILPERT, K.F.; GREGORY, J. F. 2002. Vitamins (c). In: O. R. Fennema (Ed.), *Food chemistry* (pp. 559–606). New York: Marcel Dekker.

NAWIRSKA, A.; FIGIEL, A.; KUCHARSKA, A. Z.; SOKOL-LETOWSKA, ANNA; BIESIADA, A. Drying kinetics and quality parameters of pumpkin slices dehydrated using different methods. *Journal of Food Engineering*. v. 94, p. 14 – 20, 2009.

ODRIOZOLA-SERRANO, I.; HERNÁNDEZ-JOVER, T.; MARTÍN-BELLOSO, O. Comparative evaluation of UV-HPLC methods and reducing agents to determine vitamin C in fruits. *Food Chem*. v. 105, p. 1151-1158, 2007.

PANG, C.A.; WANG, B. Oxidative Stress and Salt Tolerance in Plants. *Progress in Botany*. v. 69, p. 231-246, 2008.

PATRAS, A., BRUTON, N., DA PIEVE., BUTLER, F., DOWNEY, G. Effect of thermal and high pressure processing on antioxidant activity and instrumental colour of tomato and carrot purees. *Innovative Food Science Emerging and Technology*. v. 10, p. 16-22, 2009.

PINILLA, M. J.; PLAZA, L.; SÁNCHEZ-MORENO, C.; DE ANCOS, B.; CANO, M. P. Hydrophilic and Lipophilic Antioxidant Capacities of Commercial Mediterranean Vegetable Soups (Gazpachos). *Journal of Food Science*. v. 70, n. 1, p. 60-65, 2005.

ROBLES-SANCHEZ, M.; GORINSTEIN, S.; MARTIN-BELLOSO, O. *et al.* Frutos tropicales mínimamente procesados: Potencial antioxidante y su impacto en la salud. *Interciencia (INCI)*, v.32, n.4, p.227-232, 2007.

ROCCULI, P.; GÓMEZ, F.; MENDOZA, F.; WADSÖ, L.; ROMANI, S.; DALLA, M.; SJÖHOLM, I. Effects of the application of anti-browning substances on the metabolic activity and sugar composition of fresh-cut potatoes. *Postharvest Biology and Technology*. v. 43, p. 151-157, 2007.

SABRI, N.; PELISSIER, B.; TEISSIÉ, J. Electroporation of intact maize cells induces an oxidative stress. *European Journal of Biochemistry*. v. 238, p. 737-743, 1996.

SÁNCHEZ-MORENO, C.; PLAZA, L.; DE ANCOS, B.; CANO, M.P. Vitamin C, Provitamin A Carotenoids, and Other Carotenoids in High-Pressurized Orange Juice during Refrigerated Storage. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. v. 51, p.647-653, 2003.

SASAKI, F. F. *et al.* Alterações fisiológicas, qualitativas e microbiológicas durante o armazenamento de abóbora minimamente processada em diferentes tipos de corte. *Horticultura Brasileira*. v. 24, n. 2, p. 170-174, 2006.

SCHREINER, M.; HUYSKENS-KEIL, S. Phytochemicals in fruit and vegetables: Health promotion and postharvest elicitors. *Critical Review Plant Science*. v. 25, p. 267- 278, 2006.

SHI, J.; LE MAGUER, M. Lycopene in tomatoes: Chemical and physical properties affected by food processing. *Critical Review Food Science Nutrition*.v. 40, p. 1-42, 2000.

SILVA, M. L. C.; COSTA, R. S.; SANTANA, A. S.; KOBLITZ, M. G. B. Phenolic compounds, carotenoids and antioxidant activity in plant products. *Semina: Ciências Agrárias*. v. 31, n. 3, p. 669 – 682, 2010.

WANG, S.Y.; ZHENG, W. Effect of plant growth temperature on antioxidant capacity in strawberry. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. v. 49, p. 4977-4982, 2001.

YADAV, M.; JAIN, S.; TOMAR, R.; PRASAD, G. B. K. S.; YADAV, H. Medicinal and biological potential of pumpkin: an updated review. *Nutrition Research Reviews*. v. 23, p. 184-190, 2010.

YE, H.; HUANG, L.L.; CHEN, S.D.; ZHONG, J.J. Pulsed electric field stimulates plant secondary metabolism in suspension cultures of *Taxus chinensis*. *Biotechnology and Bioengine.* v. 88, p. 788-795, 2004.

2.5 ARTIGO 5 - Efeito do campo elétrico pulsado de moderada intensidade sob as características físico-químicas e viscosidade de purê de abóbora pasteurizado ou congelado

Resumo

O objetivo desse trabalho foi avaliar as características físico químicas (sólidos solúveis, pH, acidez titulável, cor) e viscosidade de purê produzido com pedaços de abóbora tratados e não tratados com campo elétrico pulsado de moderada intensidade (CEPMI), submetido a diferentes formas de estabilização (congelamento e a pasteurização). Pedaços de abóbora foram submetidos a um campo elétrico pulsado de moderada intensidade (CEPMI) de 0,4 kV/cm ou 2,0 kV/cm, posteriormente foram cozidos a 90°C por 20 min, a água de cocção foi retirada, e triturou-se com o auxílio de uma batedora de haste. Uma vez obtido o purê, o mesmo foi envazado em bolsas seladas de 140 ±10 g. Uma parte das bolsas contendo amostras de cada tratamento foi congelada e armazenada a -18°C e a outra parte submetida a pasteurização a 87 ± 5 °C por 15 min, resfriadas com gelo e armazenadas a 5°C. Purês de abóbora produzidos com pedaços não tratados com CEPMI foram utilizados como controle. As análises das características físico-químicas foram realizadas a cada sete dias durante um período de sete semanas. Os resultados demonstraram que o tratamento de 2,0 kV/cm e o congelamento favoreceu o incremento de algumas características físico-químicas ou a melhor manutenção das mesmas em purê de abóbora. Podemos concluir que a estabilização de purês de abóbora com o congelamento e o tratamento de 2,0 kV/cm apresentam vantagens em relação à pasteurização e aos purês desenvolvidos com pedaços de abóbora não tratados com CEPMI.

1. Introdução

Abóbora é cultivada em todo o mundo para ser consumida como vegetal, e também como produto medicinal. Tem sido usada tradicionalmente na medicina em muitos países como a China, Iugoslávia, Argentina, Índia, México, Brasil e América (Andrade-Cetto e Heinrich, 2005). É atualmente cultivada em grande escala no Brasil e em outras regiões tropicais. Na

Espanha o cultivo de abóbora tem passado por um crescimento nos últimos anos, especialmente na região de Vagas do Guadiana, região da estremadura, com o objetivo de buscar alternativa a agricultura tradicional e pouco rentável.

O purê de abóbora é um produto intermediário para fabricação de doces, geléias, bebidas e outros produtos. A retenção da cor, do sabor e da viscosidade durante o processamento térmico é alguns dos parâmetros que afetam o sucesso do produto. A manutenção dos pigmentos naturais, da textura desejada é um grande desafio na indústria de processamento de alimentos (Dutta et al., 2006).

Estudos visando determinar a contribuição das propriedades físico-químicas dos constituintes de purês, bem como os fatores de transformação empregado na fabricação dos produtos são importantes, a fim de controlar e prever suas aplicações, processos de conservação, tratamento e também a sua vida de prateleira.

O tratamento térmico é um dos mais importantes métodos de conservação utilizado para alimentos, assim como o congelamento. No entanto, a crescente demanda dos consumidores por produtos mais saudáveis e parecidos com o natural, tem levado ao desenvolvimento de métodos não térmicos de conservação de alimentos. A utilização de campo elétrico de alta intensidade vêm sendo utilizada como metodologia não térmica de conservação, e apresenta-se eficiente na inativação de microorganismos e enzimas responsáveis por alterações nos alimentos (Soliva-Fortunity et al., 2009), ao mesmo tempo que não altera as características sensoriais do produto. Outras aplicações dessa tecnologia tem sido desenvolvida. Campo elétrico pulsado de moderada intensidade tem sido proposta para estimular a síntese de compostos secundários com propriedades antioxidantes em produtos vegetais (Toepfl et al., 2006).

No entanto, a quantidade de informações sobre do purê de abóbora na literatura é bastante escassa, principalmente no que se refere às suas propriedades físicas e, conseqüentemente, às suas potencialidades na indústria alimentícia. Portanto, o objetivo desse trabalho foi avaliar as características físico químicas (sólidos solúveis, pH, acidez titulável, cor) e viscosidade de purê de abóbora tratados e não tratados com campo elétrico

pulsado de moderada intensidade (CEPMI), submetido a diferentes formas de estabilização, ao congelamento e a pasteurização.

2. Material e Métodos

2. 1 Preparo da amostra

2.1.3 Abóbora

A variedade de abóbora escolhida para a realização desse trabalho foi a mais produzida e habitual na Catalunha (Espanha): Butternut (*Cucurbita moschata Duchesne ex Poiret*). Todos os frutos foram adquiridos no Mercado Central de Frutas e Hortaliças da cidade de Lleida (Espanha) com grau de maturidade comercial. O transporte até a Universidade de Lleida – Espanha, foi realizado de forma a não provocar danos aos frutos, e uma vez recebidos na fabrica piloto da universidade, os mesmos foram armazenados a uma temperatura de 14 ± 1 °C.

Os pedaços de abóbora foram obtidos a partir de frutos inteiros e sem danos aparentes na casca. Os frutos foram lavados em água corrente, sanitizados por 5 min em solução clorada de 200 mg.L^{-1} , partidos ao meio, se retirou as sementes, e divididos em pedaços de $35 \text{ g} \pm 10$, os mesmos foram submergidos em solução clorada de 50 mg.L^{-1} por 2 min. Os pedaços sanitizados foram submetidos aos tratamentos de CEPMI. Pedaços de abóbora não tratados foram utilizados como controle.

2.1.2 Processamento de campo elétrico pulsado de moderada intensidade e armazenamento

Os tratamentos de CEPMI foram realizados em um equipamento fabricado *Physics International (San Leandro, CA, USA)*, o qual produz pulsos (monopolares de $4\mu\text{S}$ em uma freqüência de $0,1\text{Hz}$) a partir de um capacitor de $0,1\mu\text{F}$ com de onda exponencial. Uma câmara contendo duas placas paralelas de aço inoxidável foi usada. Pedaços de abóbora com casca foram colocados na câmara de tratamento com água, utilizada como meio condutor.

Os pedaços de abóbora foram submetidos aos campos elétricos de $0,4 \text{ kV/cm}$ e 20 pulsos ou $2,0 \text{ kV/cm}$ e 5 pulsos. Uma vez tratados, os pedaços

de abóbora foram submetidos a cocção a 90 °C por 20 min, posteriormente a água de cocção foi retirada e triturou-se com o auxílio de uma batedora de haste. Uma vez obtido o purê, o mesmo foi envazado em bolsas seladas de 140 ±10 g.

Uma parte das bolsas contendo a amostra foi congelada e armazenada a -18°C e a outra parte foi submetida a pasteurização a 87 ± 5 °C por 15 min, resfriadas com gelo e armazenadas a 5°C. Para o controle, foram utilizados pedaços de abóbora não submetidos ao tratamento com CEPMI, as amostras controle foram processadas e armazenadas seguindo os mesmos procedimentos descritos anteriormente. As análises foram realizadas no dia do processamento e a cada sete dias por um período de 7 semanas. O esquema do processamento pode ser visualizado na Figura 1. Os tratamentos foram realizados em duplicata e as análises em triplicata. A Figura 1 ilustra o processamento das amostras.

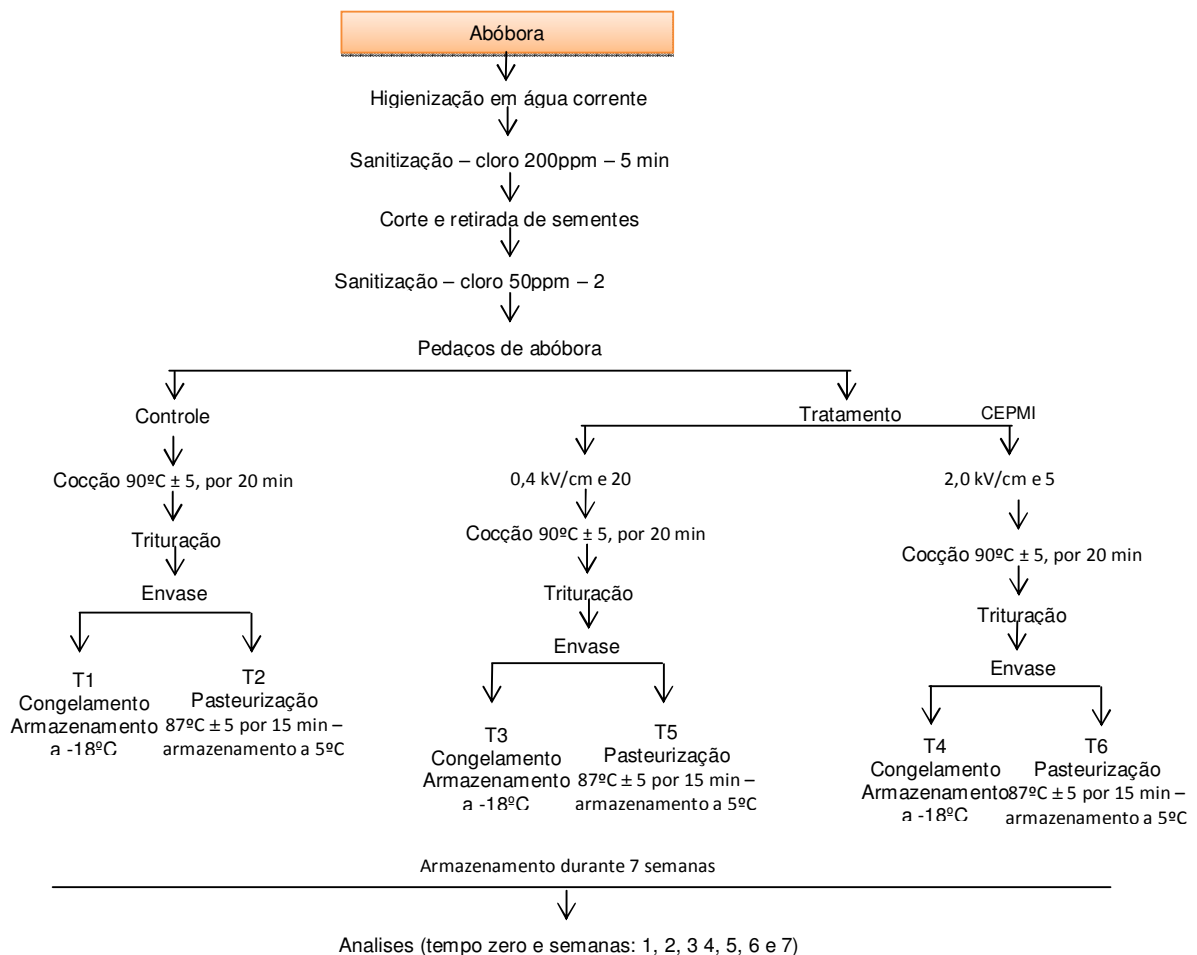


Figura 1. Esquema do processamento da abóbora e obtenção dos purês.

2.2 Análise da porcentagem de Sólidos solúveis

Para a análise da porcentagem de sólidos solúveis utilizou-se um refratômetro digital de bancada (ATAGO, RX-1000, ATAGO-CO, LTD, Japan) conforme normas da AOAC (2005), no qual foi colocada uma pequena amostra do purê no visor do aparelho e realizada a leitura. Os resultados foram expressos em % de sólidos solúveis.

2.3 Análise do valor do pH e do conteúdo de ácido cítrico (Acidez total titulável)

A leitura do valor do pH foi realizada com um potenciômetro eletrônico (Cyber Scan, XS 510, Cingapura) utilizando-se 10 g de purê diluída em 50 mL de água destilada. Após a análise do pH a mesma solução foi utilizada para análise da condutividade e da acidez total titulável. Para análise da acidez titulável a mistura foi titulada com NaOH 0,05 N utilizando-se solução alcoólica de fenolftaleína como indicador.

2.4 Análise das coordenadas de cor do purê

A cor do purê de abóbora foi determinada sob temperatura ambiente utilizando um colorímetro Minolta CR-400 (Konica Minolta Sensing, Inc. Osaka, Japan) / Macbeth Colour-Eye 3000 (Macbeth-Kollmorgen Inst Corp., newburg, NY, USA) o qual regula as coordenadas da cor a partir da refletância da mesma. O equipamento foi programado para iluminar a D75 e ângulo de observação de 10°. Foram lidas diretamente no aparelho no modo refratância e utilizando a escala L*, a*, b* (CIELAB) em que “L*” é a luminosidade, “a*” é a intensidade de vermelho/verde e “b*” é a intensidade de amarelo/azul.

2.5 Análise da Viscosidade

As medidas reológicas (viscosidade) do purê submetido ao tratamento de CEPMI ou não, e a pasteurização e ao congelamento, foram feitas em um viscosímetro rotacional (LVDV -I+, Brookfield Engineering Labs. INC. Middleboro, MA U.S.A) equipado com um sistema de medição constituído de um cilindro coaxial e um sensor (RV/HA/HB-7). Cerca de 40g de purê foi colocado no equipamento. O compartimento da amostra foi monitorizada a

uma constante temperatura de $5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ utilizando um banho de gelo. A análise da viscosidade foi realizada a 2,0 rpm e as leituras da tensão de cisalhamento foram obtidas diretamente a partir do instrumento.

2.6 Análise estatística

As diferentes formas de estabilização e tratamentos (que variou a intensidade do campo elétrico, número de pulsos), aplicados nos pedaços de abóbora foram feitos em duplicata e as análises das características físico-químicas e viscosidade em triplicata. Para avaliar os efeitos de diferentes parâmetros: intensidade do campo elétrico, número de pulsos, tempo e formas de estabilização, sobre as características físico-químicas e viscosidade. Os resultados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e regressão. Para os fatores qualitativos as médias dos valores foram comparadas com o teste de comparações múltiplas de Tukey a 5% de probabilidade. Para o fator quantitativo (tempo) os modelos de regressão foram escolhidos baseados na significância dos coeficientes de regressão. Os sistemas de análise estatística JMP® 8.0.1 (SAS Institute Inc, Cary, NC, USA) e SAS® 9.0 (licenciado pela Universidade Federal de Viçosa) foram utilizados.

3. Resultados e discussão

3.1 Efeito do tratamento de CEPMI, associado ao congelamento ou a pasteurização sob as características físico-químicas

As características físico-químicas do purê de abóbora não tratado com CEPMI podem ser visualizadas na Tabela 1.

Tabela 1. Caracterização físico-química de purê de abóbora submetido a pasteurização e ao congelamento.

Característica físico-química	Purê de abóbora não tratado	
	Congelado**	Pasteurizado**
% de sólidos solúveis	9,95 ± 0,105 ^b	10,52 ± 0,098 ^a
pH	5,91 ± 0,030 ^a	5,89 ± 0,030 ^a
Acidez total titulável (mg de ácido cítrico/100g de purê)	0,18 ± 0,020 ^a	0,21 ± 0,020 ^a
L*	46,89 ± 0,320 ^a	48,79 ± 0,58 ^a
a*	7,83 ± 0,34 ^a	7,29 ± 0,86 ^a
b*	36,01 ± 1,450 ^a	37,74 ± 1,110 ^a
Viscosidade (Pa.s)	0,38 ± 0,100 ^b	1,20 ± 0,080 ^a

**Concentração inicial: média das repetições ± desvio padrão
Médias seguidas da mesma letra na linha não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Na Tabela 2 estão as equações de regressão ajustadas e os coeficientes de determinação para as propriedades de sólido solúveis, pH, acidez titulável, coordenadas de cor L*, a* e b*.

Tabela 2. Equações ajustadas das propriedades sólidos solúveis, pH, acidez titulável, coordenadas de cor L*, a* e b*, e viscosidade para os diferentes tratamento e coeficientes de determinação.

Propriedade	Tratamento	Equações ajustadas/R ²
Sólidos Solúveis (°BRIX)	T1	$y = -0,1141x + 9,7639 / R^2 = 0,84$
	T2	$y = -0,1265x + 10,335 / R^2 = 0,90$
	T3	$y = -0,1147x + 10,026 / R^2 = 0,89$
	T4	$y = -0,0962x + 10,239 / R^2 = 0,81$
	T5	$y = -0,0413x + 9,5778 / R^2 = 0,94$
	T6	$y = -0,0857x + 10,333 / R^2 = 0,81$
pH	T4	$y = -0,0159x + 5,8729 / R^2 = 0,83$
	T5	$y = -0,0146x + 6,0014 / R^2 = 0,82$
	T6	$y = -0,0179x + 6,1203 / R^2 = 0,82$
Acidez Titulável	T1	$y = 0,0127x + 0,2188 / R^2 = 0,83$
	T2	$y = 0,0196x + 0,2089 / R^2 = 0,97$
	T3	$y = 0,0097x + 0,2543 / R^2 = 0,94$
	T4	$y = 0,0207x + 0,2248 / R^2 = 0,90$
	T5	$y = 0,0209x + 0,1818 / R^2 = 0,95$
	T6	$y = 0,0199x + 0,2138 / R^2 = 0,99$
L*	T1	$y = -0,0254x^4 + 0,3864x^3 - 1,7713x^2 + 1,7339x + 46,873 / R^2 = 0,96$
	T2	$y = -0,0368x^4 + 0,5443x^3 - 2,6786x^2 + 4,4242x + 45,261 / R^2 = 0,79$
	T3	$y = -0,0247x^4 + 0,3502x^3 - 1,4453x^2 + 1,051x + 48,137 / R^2 = 0,88$
	T5	$y = -0,0218x^4 + 0,2735x^3 - 1,1787x^2 + 1,2812x + 47,493 / R^2 = 0,98$
	T6	$y = 0,0077x^4 - 0,1381x^3 + 0,8378x^2 - 2,233x + 49,444 / R^2 = 0,93$
a*	T1	$y = 0,009x^3 - 0,0721x^2 - 0,0768x + 7,8677 / R^2 = 0,94$
	T2	$y = -0,0239x^3 + 0,1781x^2 - 0,5493x + 8,7768 / R^2 = 0,99$
	T3	$y = 0,0019x^3 - 0,0262x^2 - 0,0472x + 8,5702 / R^2 = 0,96$
	T4	$y = 0,0356x^3 - 0,3282x^2 + 0,0867x + 7,3541 / R^2 = 0,97$
	T5	$y = 0,0369x^3 - 0,3748x^2 + 0,3165x + 8,3593 / R^2 = 0,95$
	T6	$y = -0,0009x^3 + 0,0856x^2 - 1,2206x + 7,9186 / R^2 = 0,96$
b*	T1	$y = -0,0972x^3 + 1,6122x^2 - 8,5973x + 36,337 / R^2 = 0,99$
	T2	$y = -0,143x^3 + 1,8333x^2 - 7,6944x + 34,202 / R^2 = 0,96$
	T3	$y = -0,1086x^3 + 1,782x^2 - 9,3776x + 38,928 / R^2 = 0,99$
	T4	$y = 0,0046x^3 + 0,4996x^2 - 7,1905x + 37,711 / R^2 = 0,99$
	T5	$y = -0,0228x^3 + 0,6216x^2 - 6,3096x + 35,527 / R^2 = 0,97$
	T6	$y = -0,1853x^3 + 2,4815x^2 - 11,578x + 38,293 / R^2 = 0,94$
Viscosidade	T1	$y = 0,021x^2 - 0,0127x + 0,4247 / R^2 = 0,96$
	T2	$y = -0,0044x^2 + 0,131x + 1,0818 / R^2 = 0,97$
	T3	$y = 0,0034x^3 - 0,0377x^2 + 0,1535x + 1,1504 / R^2 = 0,99$
	T4	$y = 0,0111x^4 - 0,167x^3 + 0,7709x^2 - 0,7936x + 1,2311 / R^2 = 0,93$
	T5	$y = 0,011x^4 - 0,1599x^3 + 0,7173x^2 - 0,7127x + 1,068 / R^2 = 0,96$
	T6	$y = 0,011x^4 - 0,1599x^3 + 0,7173x^2 - 0,7127x + 1,068 / R^2 = 0,95$

T1 = Purê não tratado congelado; T3 = 2,0 kV/cm congelado; T4 = Purê não tratado pasteurizado; T5 = 0,4 kV/cm pasteurizado; T6 = 2,0 kV/cm pasteurizado.

Podemos observar que apenas o percentual de sólidos solúveis e a viscosidade foram influenciados pela forma de estabilização (pasteurização e congelamento), sendo que os purês submetidos a pasteurização apresentaram essas características estatisticamente superior ($p < 0,05$) as

amostras congeladas. Fato esperado, uma vez que o calor provoca solubilização de alguns sólidos e a gelatinização da pectina aumentando a concentração de sólidos solúveis e a viscosidade.

A concentração de sólidos solúveis dos purês de abóbora ao longo do período de armazenamento apresenta de uma forma geral redução desses componentes (Figura 2). Nas amostras congeladas (Figura 2 A), a não tratada (T1) apresentou menor concentração de sólidos solúveis durante praticamente todo o período de análise, portanto, podemos relatar que os purês provenientes dos pedaços de abóbora submetidos aos tratamentos de CEPMI (T2 e T3) mantiveram concentrações estatisticamente superiores ($p < 0,05$) durante o período de armazenamento. Nas amostras submetidas ao processo de pasteurização (Figura 2 B) os purês dos pedaços de abóbora submetidos a 0,4 kV/cm (T5) apresentaram as menores concentrações de sólidos solúveis, porém a partir quarta semana de armazenamento não houve diferença significativa entre as amostras tratadas (T5 e T6) e as não tratadas (T4).

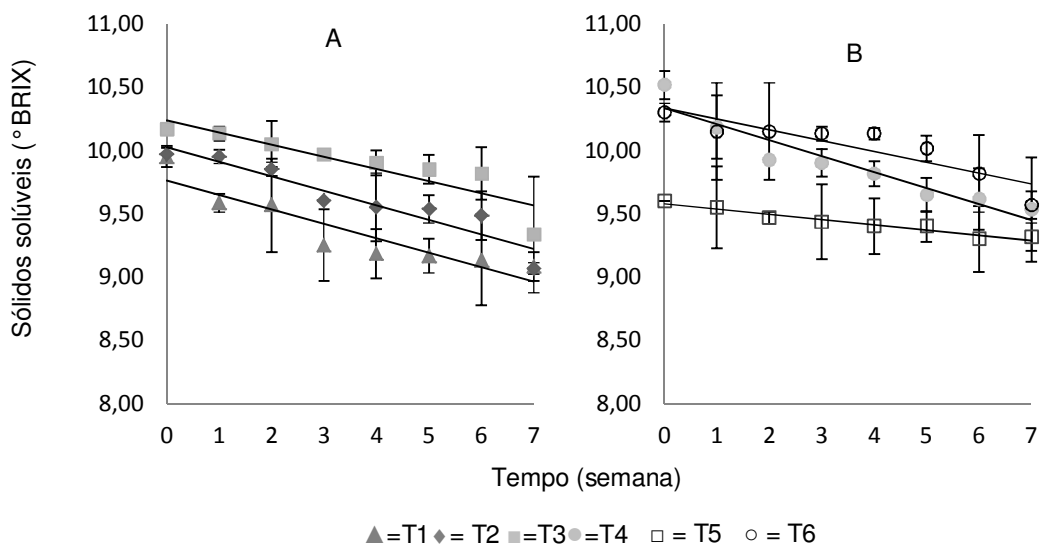


Figura 2. Porcentagem de sólidos solúveis de purê proveniente de pedaços de abóbora tratado e não tratados com CEPMI congelados ou pasteurizados.

T1 = Purê não tratado congelado; T2 = 0,4 kV/cm congelado; T3 = 2,0 kV/cm congelado; T4 = Purê não tratado pasteurizado; T5 = 0,4 kV/cm pasteurizado; T6 = 2,0 kV/cm pasteurizado; A = purês congelados, B = purês pasteurizados

A redução do conteúdo de sólidos solúveis pode ser explicada pelo aumento do conteúdo de ácido cítrico nessas amostras (Karacay e Ayhan, 2010) e pela aplicação do processamento, o qual provoca um efeito de lixiviação nos componentes do alimento (Alegria et al., 2010).

Os valores de pH diminuem ao longo do período de armazenamento (Figura 3). Para os purês congelados (Figura 3 A) as amostras provenientes dos pedaços de abóbora tratados com 2,0 kV/cm (T3) apresentaram valores de pH estatisticamente superiores às outras amostras (T1 e T2). No entanto, não houve interação significativa ($p > 0,05$) entre o tempo e o tratamento.

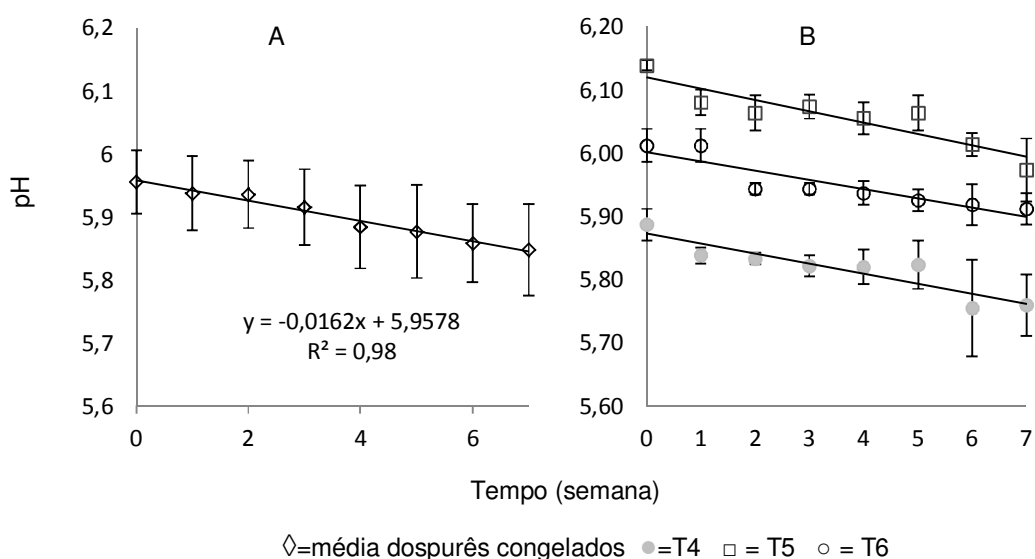


Figura 3. Valores de pH de purê proveniente de pedaços de abóbora tratado e não tratado com CEPMI congelados ou pasteurizados.

T4 = Purê não tratado pasteurizado, T5 = 0,4 kV/cm pasteurizado; T6 = 2,0 kV/cm pasteurizado; A = purês congelados, B = purês pasteurizados

Já para os purês submetidos ao processo de pasteurização (Figura 3 B), as não tratadas com CEPMI (T4) apresentaram menores valores de pH ($p < 0,05$), seguidas das submetidas a 2,0 kV/cm (T6) e depois daquelas tratadas com 0,4 kV/cm (T5), essas diferenças se mantiveram durante todo o período de armazenamento. Comparando as amostras congeladas e as pasteurizadas, as últimas apresentaram maiores valores de pH, ou seja, menos ácidas. Isso provavelmente decorre da volatilização de alguns ácidos

orgânicos sensíveis ao aquecimento e também pelo efeito de destruição de micro-organismos produtores de ácidos (Figura 3).

A acidificação das amostras pode ser provocada pelo tratamento de CEPMI, o qual causa eletroporação das células vegetais, esse fenômeno provoca saída de compostos intracelulares, o que poderia justificar o maior valor de pH observado nas amostras submetidas a um maior valor de campo elétrico. A diminuição no valor do pH em alimentos pode ser relacionado ao aumento da população de bactérias ácido lácticas, conseqüentemente fermentação e presença de subprodutos do processo, tais como os ácidos láctico e acético (Alegria et al., 2010).

A acidez titulável aumentou ao durante o armazenamento em todas as amostras analisadas (Figura 4). O aumento significativo da acidez total titulável das amostras pasteurizadas também foi relatada em purê misto de frutas (De Brito et al., 2011). Das amostras submetidas ao congelamento (Figura 4 A), aquelas não tratadas com CEPMI (T1) apresentaram menor conteúdo de acidez titulável, seguida da amostra submetida a 0,4 kV/cm (T2) e 2,0 kV/cm (T3). Nas amostras pasteurizadas (Figura 4 B) as não tratadas (T4) apresentaram o maior valor de ácido cítrico por 100g de purê.

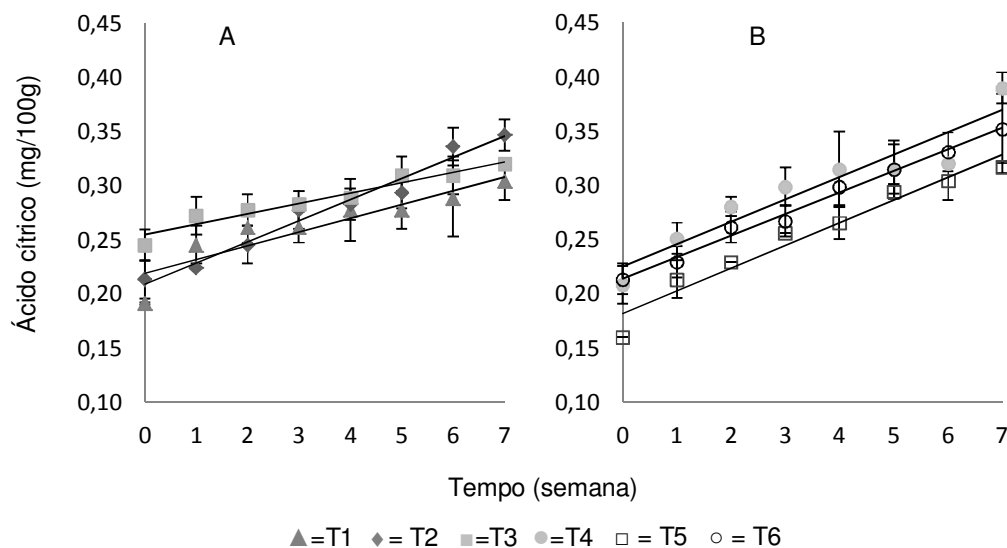


Figura 4. Valores de acidez titulável de purê proveniente de pedaços de abóbora tratado e não tratados com CEPMI congelados ou pasteurizados.

T1 = Purê não tratado congelado; T2 = 0,4 kV/cm congelado; T3 = 2,0 kV/cm congelado; T4 = Purê não tratado pasteurizado; T5 = 0,4 kV/cm pasteurizado; T6 = 2,0 kV/cm pasteurizado; A = purês congelados, B = purês pasteurizados

O conteúdo de ácidos tituláveis em alimentos pode aumentar devido ao crescimento de micro-organismos, de acordo com trabalhos anteriores, o processamento por CEPMI pode exercer algum efeito deletério sobre a microbiota presente nos alimentos. Em relação às amostras congeladas e pasteurizadas não houve diferença significativa ($p > 0,05$) quanto os valores de acidez titulável (Figura 4). Portanto, ambas as formas de estabilização foram eficientes para manutenção dessa característica, sendo que as amostras tratadas com CEPMI mantiveram menores concentrações de ácido cítrico/100g de amostra.

Os valores da coordenada L^* nos purês de abóbora congelados (Figura 5 A) daqueles originados dos pedaços submetidos ao tratamento de 2,0 kV/cm (T3) apresentaram maiores valores desse parâmetro, seguido da amostra não tratada (T1) e daquelas submetidas a 0,4 kV/cm (T2). Durante o período de armazenamento os valores de L^* nas amostras tratadas com 0,4 kV/cm (T2) não diferiram estatisticamente ($p > 0,05$) aquelas submetidas a 2,0 kV/cm (T4) e apresentam-se estatisticamente superiores aos da amostra não tratada (T1). O tratamento de CEPMI causa eletroporação das células

vegetais, levando ao extravasamento de conteúdo intracelular, dentre esses estão os pigmentos, responsáveis pelo aumento da luminosidade nos alimentos submetidos a essa tecnologia (Alegria et al., 2010).

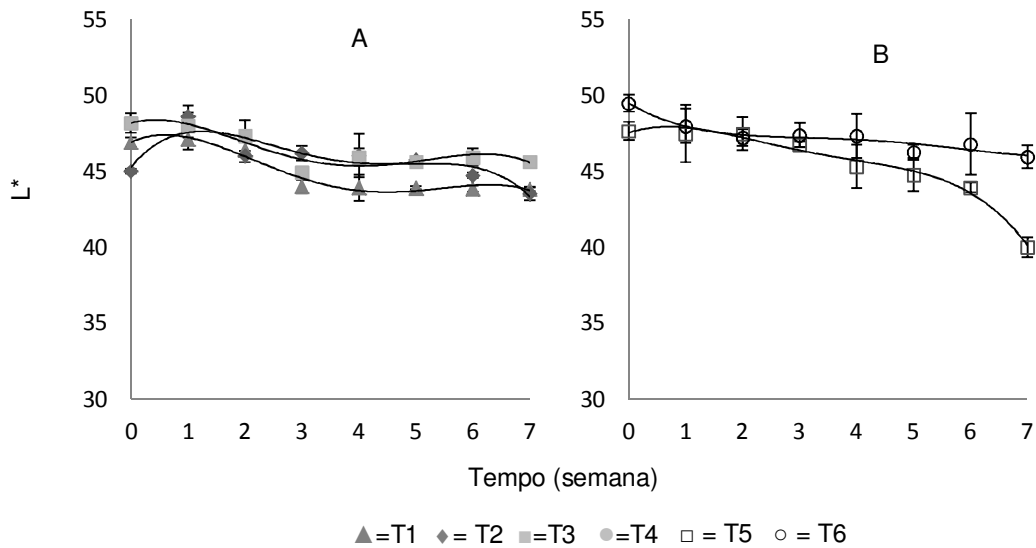


Figura 5. Valores de L* de purê proveniente de pedaços de abóbora tratado e não tratados com CEPMI congelados ou pasteurizados.

T1 = Purê não tratado congelado; T2 = 0,4 kV/cm congelado; T3 = 2,0 kV/cm congelado; T4 = Purê não tratado pasteurizado; T5 = 0,4 kV/cm pasteurizado; T6 = 2,0 kV/cm pasteurizado; A = purês congelados, B = purês pasteurizados

Nas amostras pasteurizadas não tratadas (T4) (Figura 5 B), o tempo não causou efeito significativo nos valores de L*. Das amostras tratadas, aquelas submetidas a 2,0 kV/cm (T6) apresentaram os maiores valores de L*. Os pigmentos extravasados durante a aplicação do CEPMI poderiam ter sido destruídos durante o aquecimento. Ao final do período de armazenamento se observa redução nos valores de L* nas amostras T6. Reduções nos valores de L* indicam que as amostras se tornaram mais escuras ao longo do período de armazenamento. Comparado os purês congelados e pasteurizados, os últimos apresentaram valores de L* estatisticamente ($p < 0,05$) maiores. Esse fato pode estar relacionado a inativação das enzimas PPO e POD pelo calor, as quais são responsáveis pelo escurecimento de alimentos (Zhan et al., 2012).

De uma forma geral os valores de a^* diminuem durante o período de armazenamento em todas as amostras analisadas, independente do tratamento de CEPMI e da forma de estabilização (Figura 6). Essa coordenada de cor nos purês de abóbora congelados (Figura 6 A) apresentou-se estatisticamente menor ($p < 0,05$) nas amostras não submetidas ao tratamento de CEPMI (T1) em relação às amostras tratadas (T2 e T3), entre as tratadas àquelas submetidas a 2,0 kV/cm (T3) apresentaram valores de a^* estatisticamente superiores ($p < 0,05$) aos purês provenientes dos pedaços tratados com 0,4 kV/cm (T2). Na última semana os valores apresentados pelos purês provenientes dos pedaços de abóbora submetidos a 0,4 kV/cm (T2) apresentaram-se estatisticamente menores ($p < 0,05$) em relação às outras amostras congeladas (T1 e T3), as quais não diferiram entre si ($p > 0,05$).

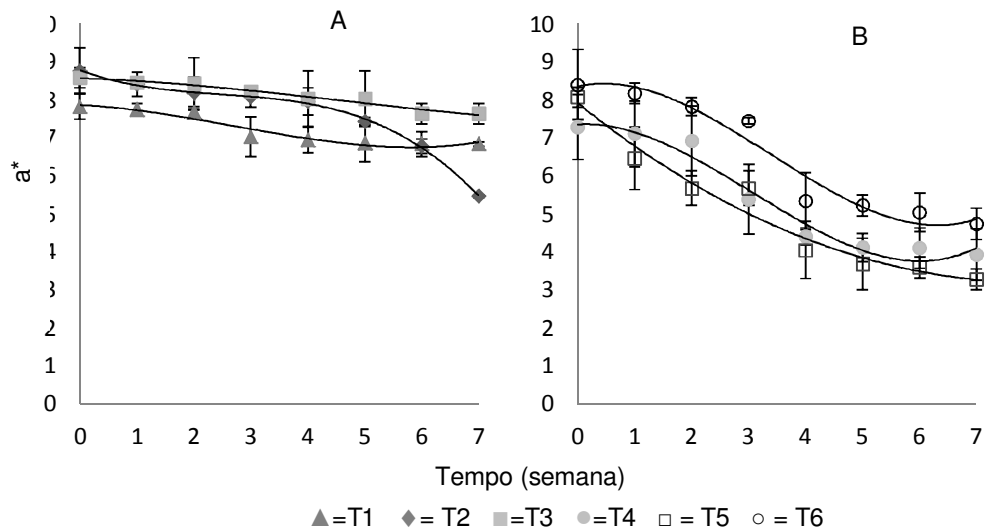


Figura 6. Valores da coordenada de cor a^* de purê proveniente de pedaços de abóbora tratado e não tratado com CEPMI congelados ou pasteurizados.

T1 = Purê não tratado congelado; T2 = 0,4 kV/cm congelado; T3 = 2,0 kV/cm congelado; T4 = Purê não tratado pasteurizado T5 = 0,4 kV/cm pasteurizado; T6 = 2,0 kV/cm pasteurizado; A = purê congelado; B = purê pasteurizado.

Durante o período de armazenamento os valores de a^* nos purês pasteurizados (Figura 6 B), foram menores nas amostras produzidas com os pedaços de abóbora tratados com 0,4 kV/cm (T5) emantiveram-se superiores na amostra submetida a 2,0 kV/cm (T6) durante todo o período de armazenamento. As modificações na coordenada a^* em alimentos está relacionada com atividades enzimáticas (p.ex. polifenoloxidade), a qual pode não ter sido inativada nessas amostras. Comparando os purês submetidos ao congelamento e à pasteurização percebe-se que os primeiros apresentaram valores de a^* estatisticamente superiores ($p < 0,05$). O tratamento de CEPMI favorece a liberação de pigmento, justificando os maiores valores de a^* nos purês provenientes do tratamento de 2,0 kV/cm. Já o aquecimento pode causar destruição ou modificação na estrutura dos pigmentos (p. ex. carotenóides).

Os valores de b^* apresentaram redução ao longo do período de armazenamento em todas as amostras analisadas (Figura 7). Nos purês submetidos ao congelamento (Figura 7 A) aqueles provenientes dos pedaços de abóbora tratados com 2,0 kV/cm (T3) apresentaram valores de b^* estatisticamente superior ($p < 0,05$) às outras amostras (T1 e T2), sendo que a amostra não tratada (T1) e a submetida a 0,4 kV/cm (T2) não diferiram entre si ($p > 0,05$). Nas amostras pasteurizadas (Figura 7 B) observou-se diferença nos valores de b^* apenas durante quinta e sexta semana de armazenamento, no restante do período não diferiram entre si. Comparando os purês submetidos ao congelamento e à pasteurização percebe-se que os primeiros apresentaram valores de b^* estatisticamente superiores.

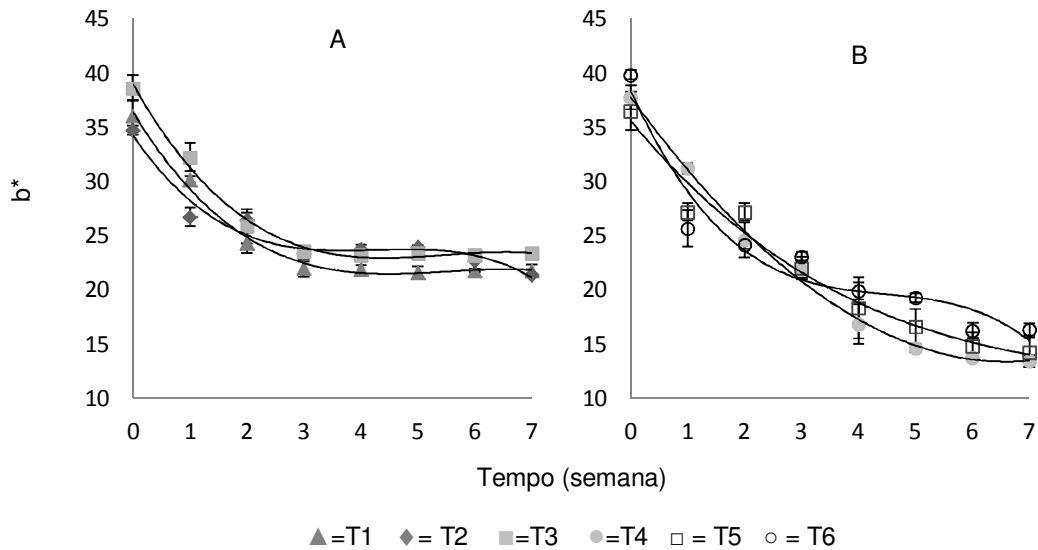


Figura 7. Valores da cordenada de cor b^* de purê proveniente de pedaços de abóbora tratado e não tratados com CEPMI congelados ou pasteurizados.

T1 = Purê não tratado congelado; T2 = 0,4 kV/cm congelado; T3 = 2,0 kV/cm congelado; T4 = Purê não tratado pasteurizado T5 = 0,4 kV/cm pasteurizado; T6 = 2,0 kV/cm pasteurizado; A = purê congelado; B = purê pasteurizado

Redução nos valores de b^* indica que houve uma diminuição da coloração amarela do alimento, reações comuns em razão do processamento, podendo ocorrer oxidação enzimática, por meio da interação entre substratos e enzimas e, também, por perdas de vitaminas, principalmente os carotenóides, que conferem a coloração amarela-alaranjada (Alves et al., 2010).

De Brito et al. (2011) também verificaram que os valores de L^* , a^* e b^* apresentaram decréscimo em purê misto de frutas, melhor visualizado nas amostras que sofreram esterilização. Tal alteração indica perda da cor alaranjada e conseqüente escurecimento devido à oxidação dos pigmentos naturais. Reações não-enzimáticas de escurecimento em vegetais e seus derivados, podem causar mudanças de cor, perda de açúcar, e formação de hidroximetilfurfural (HMF), afetando a qualidade dos produtos. A descoloração e o escurecimento devido a tratamentos térmicos são resultado de várias reacções. Estas incluem a reação de Maillard entre

açúcares redutores e aminoácidos, e caramelização e processos de escurecimento do ácido ascórbico (Cornwell & Wrostad, 1981) e destruição de pigmento (Beveridge et al., 1986).

Ao analisar a Figura 8 observamos que todas as amostras apresentam incremento dos valores de viscosidade, no entanto o aumento ocorreu em maior proporção nas amostras submetidas à pasteurização (Figura 8 B), sendo estatisticamente superior aos valores apresentados pelas amostras congeladas (Figura 8 A). A viscosidade dos purês congelados provenientes dos pedaços de abóbora submetidos a 0,4 kV/cm (T2) apresentou-se estatisticamente superior em relação aqueles provenientes dos pedaços tratados com 2,0 kV/cm (T3) e dos não tratados (T1). No entanto, durante o período de armazenamento não houve diferença significativa entre as amostras tratadas (T2 e T3), as quais apresentaram valores de viscosidade estatisticamente superior ao das amostras não tratadas (T1).

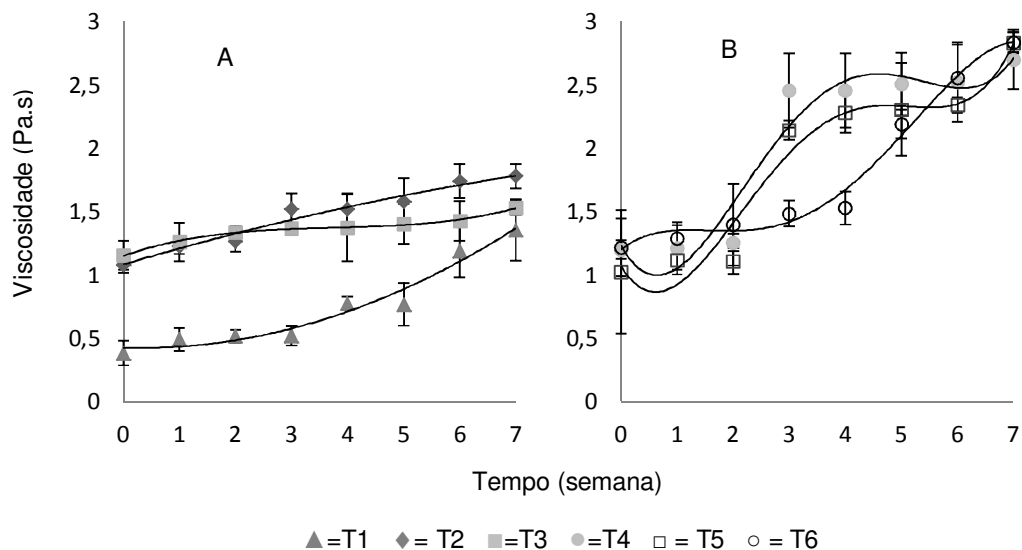


Figura 8. Viscosidade de purê proveniente de pedaços de abóbora tratado e não tratados com CEPMI congelados ou pasteurizados.

T1 = Purê não tratado congelado; T2 = 0,4 kV/cm congelado; T3 = 2,0 kV/cm congelado; T4 = Purê não tratado pasteurizado; T5 = 0,4 kV/cm pasteurizado; T6 = 2,0 kV/cm pasteurizado; A = purês congelados; B = purês pasteurizados

Nas amostras pasteurizadas (Figura 8 B) os purês produzidos com os pedaços de abóbora não tratados (T4) apresentaram valores de viscosidade estatisticamente superior ao das amostras tratadas com CEPMI (T5 e T6), essas últimas não diferiram entre si. Ao analisar a viscosidade durante o período de estocagem houve diferença apenas entre as amostras na terceira e quarta semana, no restante do período a viscosidade apresentou-se igual em todas as amostras. Entre as amostra congeladas e pasteurizadas, as últimas apresentaram valores de viscosidade estatisticamente superior às primeiras. A viscosidade é uma propriedade de qualidade importante depurês, e sua perda está relacionada com a degradação de substâncias pécticas por enzimas endógenas, tais como PME e poligalacturonase (Plaza et al,2003) .

5. Conclusão

Os purês de abóbora pasteurizados apresentaram maiores valores de sólidos solúveis, L^* e viscosidade, já os congelados demonstraram incremento nas coordenadas de cor a^* e b^* . O tratamento de CEPMI favoreceu ao incremento da porcentagem de sólidos solúveis, da acidez titulável, não havendo diferença entre os campos de 0,4 e 2,0 kV/cm. O tratamento de 2,0 kV/cm causou incremento de b^* nas amostras pasteurizadas.

Podemos concluir que a combinação da estabilização através do congelamento e o tratamento de 2,0 kV/cm apresentou vantagens em relação à pasteurização e aos purês desenvolvidos com pedaços de abóbora não tratados com CEPMI.

Agradecimentos

Este estudo foi realizado com apoio financeiro do Instituto Nacional de Investigação e Tecnologia Agrária e Alimentar (INIA, Espanha) através do projeto RTA 2010-00079-C02-02. Agradecemos a "Coordenação de Aperfeiçoamento de Nível Superior" (CAPES) /Brasil, e a "Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais" (FAPEMIG) que forneceu à autora Mirella Lima Binoti uma bolsa de doutorado e agradecemos também à Universidade de Viçosa (UFV).

Referencias bibliográficas

- ALEGRIA, C.; PINHEIRO, J.; GONÇALVES, E. M.; FERNANDES, I. MOLDÃO, M.; ABREU, M. Evaluation of a pre-cut heat treatment as an alternative to chlorine in minimally processed shredded carrot. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. v. 11, p. 155–161, 2010.
- ALVES, J.A.; VILAS BOAS, E.V.B; SOUZA, E.C.; VILAS BOAS, B. M.; PICCOLI, R.H.. Vida útil de produto minimamente processado composto porabóbora, cenoura, chuchu e mandioquinha-salsa. *CiênciaAgrotecnica*. v. 34, n. 1, p. 182-189, 2010.
- ANDRADE-CETTO, A.; HEINRICH, M. Mexican plants with hypoglycaemic effect used in the treatment of diabetes. *Journal of Ethnopharmacol*. v. 99, p. 325-348, 2005.
- AOAC. Official Methods of Analysis. 18th. Association of Analytical Chemistry. Washington, DC. 2005.
- BEVERIDGE, T., FRANZ, K. Y., & HARRISON, J. E. Clarified natural apple juice: production and storage stability of juice and concentrate. *Journal of Food Science*. v. 51, p. 411-414, 1986.
- CORNWELL, C. J., & WROLSTAD, R. E. Causes of browning in pear juice concentrate during storage. *Journal of Food Science*. v. 46, p. 515-518, 1981.
- DE BRITO, A.C.W.; JUNIOR, B.D.; STERTZ, S.C.; FREITAS, R.J.S. Caracterização e estabilidade de purê misto de frutas, fonte de fibra alimentar. *Boletim do CEPPA*. v. 29, n. 1, p. 137-146, 2011.
- DUTTA, D.; DUTTA, A.; RAYCHAUDHURI, U.; CHAKRABORTY, R. Rheological characteristics and thermal degradation kinetics of beta-carotene in pumpkin puree. *Journal of Food Engineering*. v. 76, p. 538–546, 2006.
- KARACAY, E. AND AYHAN, Z. Microbial, physical, chemical and sensory qualities of minimally processed and modified atmosphere packaged “ready to eat” orange segments. *International Journal of Food Properties*. v. 13, p. 960-971, 2010.
- PLAZA, L.; MUÑOZ, M.; DE ANCOS, B. CANO, M.P. Effect of combined treatments of high-pressure, citric acid and sodium chloride on quality parameters of tomato puree. *Europe Food Research Technology*. v. 216, p. 514-519, 2003.

SOLIVA-FORTUNY, R.; BALASA, A.; KNORR, D.; MARTÍN-BELLOSO, O. Effects of pulsed electric fields on bioactive compounds in foods: a review. *Trends Food Science and Technology*. v. 20, p. 544–556, 2009.

TOEPFL, S.; MATHYS, A.; HEINZ, V.; KNORR, D.. Review: Potential of high hydrostatic pressure and pulsed electric fields for energy efficient and environmentally friendly food processing. *Food Review International*. v. 22, p. 405–423, 2006.

ZHAN, L.; LI, Y.; HU, J.; PANG, L.; FAN, H. Browning inhibition and quality preservation of fresh-cut romaine lettuce exposed to high intensity light. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. v. 14, p. 70–76, 2012.

2.6 ARTIGO 6 - Efeito do campo elétrico pulsado de moderada intensidade sobre os compostos bioativos em purê de abóbora pasteurizado ou congelado

Resumo

A abóbora é um fruto muito nutritivo, porém suas aplicações são pouco exploradas. O purê da mesma pode ser utilizado como matéria prima para vários produtos, como pães, massa, doces, etc. O objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito do tratamento de campo elétrico pulsado de moderada intensidade (CEPMI) e de diferentes formas de estabilização (pasteurização ou congelamento) sobre os compostos bioativos em purê de abóbora. Pedacos de abóbora foram submetidos aos tratamentos de $0,4 \text{ kV.cm}^{-1}$ e 20 pulsos ou $2,0 \text{ kV.cm}^{-1}$ e 5 pulsos, e deixados por 1h a temperatura ambiente. Os pedacos de abóbora tratados e não tratados (usados como controle) foram coccionados por 20 min a $90 \text{ }^{\circ}\text{C}$ e posteriormente triturados para obtenção do purê. As amostras ($140\text{g} \pm 10\text{g}$) foram embaladas em bolsas de plástico termo resistentes e seladas a quente. Parte das bolsas foi submetida à pasteurização por 15 min a $90 \text{ }^{\circ}\text{C}$, imediatamente resfriadas em gelo e armazenadas sob refrigeração. Outra parte das bolsas foi imediatamente congelada. Imediatamente após a embalagem e a cada semana foram realizadas análises dos compostos fenólicos totais, flavonóis totais, luteína, α -caroteno, β - caroteno, vitamina C e atividade antioxidante (hidrofílica e lipofílica). O armazenamento durou 7 semanas. Nos purês provenientes dos pedacos de abóbora tratados com CEPMI em relação ao purê produzido com amostras não tratadas, o conteúdo de compostos fenólicos aumentou em 111 – 304%. O incremento de compostos flavonóides foi de 5,83 – 27,85%, o conteúdo de vitamina C apresentou-se 55,86 – 185% maior, de α -caroteno 14,9 – 34,04%, de β -caroteno 18,13 – 27,33% e luteína de 55,93 – 68,75%. A atividade antioxidante hidrofílica aumentou de 2,33 – 5,69% e a lipofílica 3,44%. O congelamento foi a forma mais eficiente para mantê-los. Portanto, o CEPMI combinado à produção e purês estabilizados por congelamento é uma alternativa promissora para se agregar valor nutricional e econômico à abóbora.

Palavras – chave: purê de abóbora, antioxidantes, congelamento, pasteurização, campo elétrico pulsado de moderada intensidade.

Introdução

Abóbora é representada por frutos de diferentes espécies da família Cucurbita, é cultivada em todo o mundo, sua polpa e sementes são utilizadas para a nutrição humana, podem ser utilizadas para o consumo direto ou servir de matéria prima para outros produtos, como doces, xaropes, compotas, purês. Tem sido usada tradicionalmente na medicina em muitos países como a China, Iugoslávia, Argentina, Índia, México, Brasil e América (Andrade-Cetto e Heinrich, 2005). Na Espanha o cultivo de abóbora tem passado por um crescimento nos últimos anos, especialmente na região de Vagas do Guadiana, região da estremadura, com o objetivo de buscar alternativa a agricultura tradicional e pouco rentável. Representam um alimento rico em carotenos (Gwanama et al., 2001).

Embora não existam dados oficiais reportados no Brasil, a produção de abóboras, especialmente das espécies *Cucurbita moschata* e *Cucurbita máxima*, é alta, principalmente entre os pequenos agricultores. Apesar de seus aspectos nutricionais e baixo custo de produção, há poucos produtos derivados de abóboras no mercado, e seu consumo está limitado basicamente a forma de frutos frescos ou doces. O purê de abóbora, estabilizado por esterilização comercial, é um produto com valor agregado e de conveniência uma vez que pode ser facilmente incorporado em preparações, tais como pães, massas e doces. Além disso, a tecnologia para sua produção pode ser acessível a pequenas e médias agroindústrias (Provesi et al., 2011).

Alterações no conteúdo de alguns compostos bioativos de grande em abóboras, como carotenóides e compostos fenólicos podem ocorrer perdas durante o processamento e armazenamento, podendo comprometer grandemente a qualidade do produto final e, eventualmente, a sua aceitação. Os tratamentos térmicos ainda permanecem pelo menos como uma das formas mais aplicadas de estabilização de alimentos por causa de seu excelente desempenho contra micro-organismos. Neste contexto, há uma busca constante por novas formas de processamento que mantenham o

valor nutricional dos produtos o mais próximo possível de seus similares *in natura* (Odrizola-Serrano et al., 2011).

O tratamento de campo elétrico pulsado de alta intensidade tem demonstrado ser um método de pasteurização alternativo a pasteurização tradicional, devido sua eficiência na inativação de enzimas e microorganismos (Rivas, Rodrigo et al., 2006). As versões de baixa ou moderada de intensidade desse tratamento são atualmente estudadas devido à possibilidade e uso potencial na permeabilização de tecidos vegetais, permitindo assim mais eficiência nos processos de extração de compostos intracelulares (p.ex. compostos antioxidantes e pigmentos) e também nos processos de secagem de alimentos. Além disso, essa tecnologia apresenta potencial para induzir reações de estresse em sistemas vegetais ou culturas de células, de modo a estimular ou aumentar a bioprodução de certos compostos de interesse (Toepfl et al., 2006).

Levando em consideração os escassos estudos sobre a composição de produtos industriais derivados de abóboras, e sobre tecnologias capazes de beneficiar a composição nutricional desses produtos, o objetivo desse trabalho foi estudar as alterações nos compostos bioativos durante o período de armazenamento de purê de abóbora tratada com campo elétrico pulsado de moderada intensidade (CEPMI) e estabilizado com pasteurização ou congelamento.

2. Material e métodos

2.1 Preparo da amostra

2.1.1 Abóbora

A variedade de abóbora escolhida para a realização desse trabalho foi a mais produzida e habitual na Catalunha (Espanha): Butternut (*Cucurbita moschata Duchesne ex Poiret*). Todos os frutos foram adquiridos no Mercado Central de Frutas e Hortaliças da cidade de Lleida (Espanha) com grau de maturidade comercial. O transporte até a Universidade de Lleida – Espanha, foi realizado de forma a não provocar danos aos frutos, e uma vez recebidos na fabrica piloto da universidade, os mesmos foram armazenados a uma temperatura de 14 ± 1 °C.

Os pedaços de abóbora foram obtidos a partir de frutos inteiros e sem danos aparentes na casca. Os frutos foram lavados em água corrente, sanitizados por 5 min em solução clorada de 200 mg.L^{-1} , partidos ao meio, se retirou as sementes, e divididos em pedaços de $35 \text{ g} \pm 10 \text{ g}$; em alguns pedaços se procedeu também a retirada da casca com o auxílio de uma faca. Uma vez em pedaços, os mesmos foram submergidos em solução clorada de 50 mg.L^{-1} por 2 min. Os pedaços sanitizados foram submetidos aos tratamentos de CEPMI. Pedaços de abóbora sem tratamento foram utilizados como controle.

2.1.2 Equipamento de campo elétrico pulsado

Os tratamentos de CEPMI foram realizados em um equipamento fabricado *Physics International (San Leandro, CA, USA)*, o qual produz pulsos (monopolares de $4\mu\text{S}$ em uma frequência de $0,1\text{Hz}$) a partir de um capacitor de $0,1\mu\text{F}$ de onda exponencial. Uma câmara contendo duas placas paralelas de aço inoxidável foi usada. Pedaços de abóbora com casca foram colocados na câmara de tratamento com água, utilizada como meio condutor.

Baseando-se em estudos anteriores, os pedaços de abóbora foram submetidos aos campos elétricos de $0,4 \text{ kV/cm}$ e 20 pulsos ou $2,0 \text{ kV/cm}$ e 5 pulsos. Uma vez tratados, os pedaços de abóbora foram submetidos a cocção a 90°C por 20 min, posteriormente a água de cocção foi retirada e triturou-se com o auxílio de uma batedora de haste. Uma vez obtido o purê, o mesmo foi envasado em bolsas plásticas termo resistentes seladas de $140 \pm 10 \text{ g}$.

Uma parte das bolsas contendo a amostra foi congelada e armazenada a -18°C e a outra parte foi submetida a pasteurização a $87 \pm 5^\circ\text{C}$ por 15 min, resfriadas com gelo e armazenadas a 5°C . Para o controle, foram utilizados pedaços de abóbora não submetidos ao tratamento com CEPMI, as amostras controle foram processadas e armazenadas seguindo os mesmos procedimentos descritos anteriormente. As análises foram realizadas no dia do processamento e a cada sete dias por um período de 7 semanas. O esquema do processamento pode ser visualizado na Figura 1. Os

tratamentos foram realizados em duplicata e as análises em triplicata. A Figura 1 ilustra o processamento das amostras.

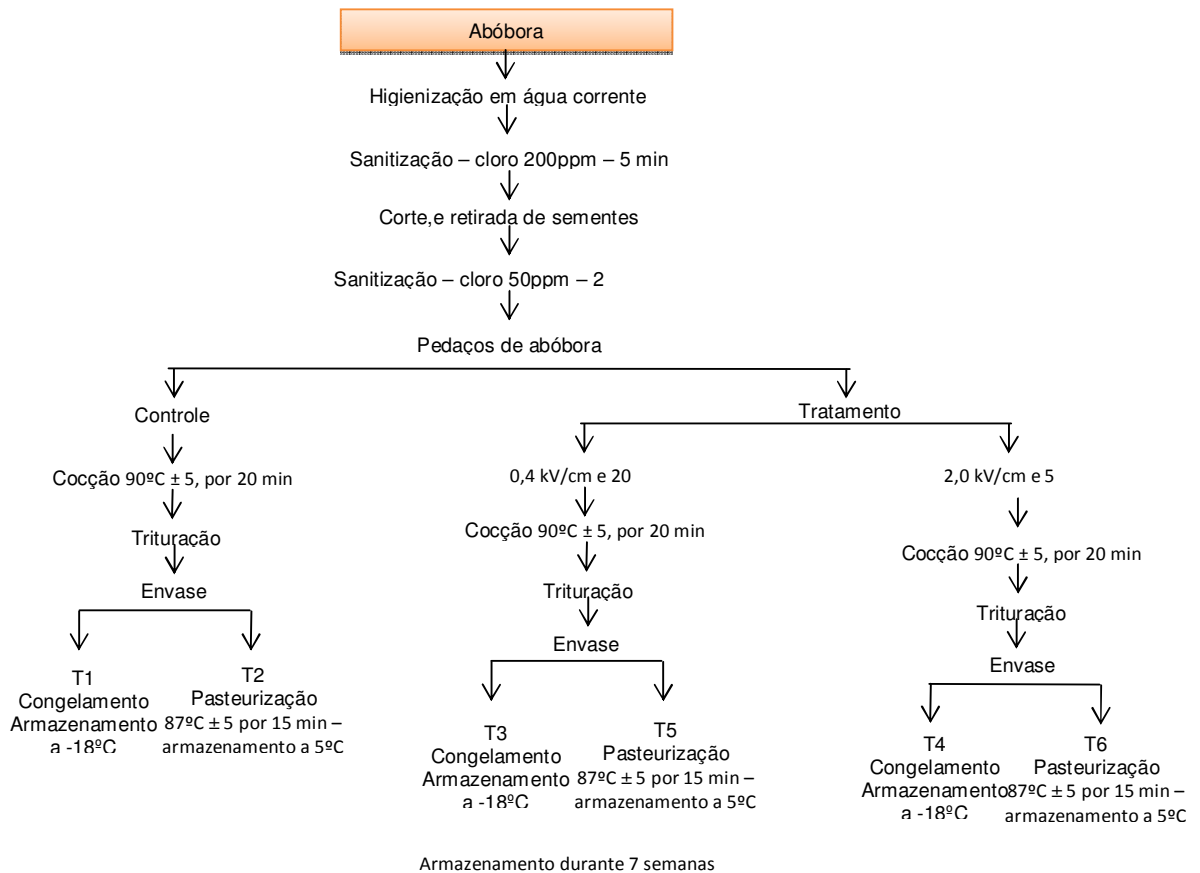


Figura 1. Esquema do processamento da abóbora e obtenção dos purês.

Análises (tempo zero, semanas: 1, 2, 3, 4, 5, 6 e 7)

2.1.3 Processamento da amostra

A aplicação do tratamento foi realizada submetendo os pedaços de abóbora a um campo elétrico pulsado, confinando-o num meio aquoso entre dois eletrodos de maneira que se estabelecesse um campo uniforme entre eles. Os pedaços de abóbora foram submetidos aos campos elétricos de $0,4 \text{ kV.cm}^{-1}$ e 20 pulsos ou $2,0 \text{ kV.cm}^{-1}$ e 5 pulsos. Os pedaços de abóbora foram obtidos a partir de frutos inteiros e sem danos aparentes na casca. Os frutos foram lavados em água corrente, sanitizados por 5 min em solução clorada de 200 ppm (4% de cloro ativo), partidos ao meio, se retirou as sementes, e os mesmos foram divididos em pedaços de $35 \text{ g} \pm 10$. Os pedaços foram submergidos em solução clorada de 50 ppm (4% de cloro

ativo), por 2 min. Os pedaços sanitizados foram tratados com CEPMI. Uma vez tratados, os pedaços de abóbora foram deixados por 1h a temperatura ambiente e posteriormente foram submetidos a cocção a $90^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ por 20 min, posteriormente a água de cocção foi retirada e triturou-se com o auxílio de uma batidora de haste. Uma vez obtido o purê, o mesmo foi envazado em bolsas seladas de 140 ± 10 g.

Uma parte das bolsas contendo a amostra foi armazenada a -18°C e a outra parte foi submetida a pasteurização a $90 \pm 5^{\circ}\text{C}$ por 15 min, resfriadas com gelo e armazenadas a 5°C . Para o controle, foram utilizados pedaços de abóbora não submetidos ao tratamento com CEPMI, as amostras foram processadas e armazenadas seguindo os mesmos procedimentos descritos anteriormente.

As análises foram realizadas no dia do processamento e a cada sete dias por um período de 7 semanas. Os tratamentos foram realizados em duplicata e as análises em triplicata. Pode-se visualizar o processamento das amostras na Figura 1.

2.2 Determinações do conteúdo total de compostos fenólicos e flavonóides totais.

2.2.1 Extração

Foram preparados extratos metanólicos como descrito por Patras et al. (2009) com algumas modificações. Foram adicionados 5 mL de metanol 80% a 0,5g de amostra liofilizada, a solução foi homogeneizada por 2min a 10200 rpm usando um homogeneizador (Ultraturrax -IKA+25 digital - Germany). As amostras foram então centrifugadas por 15min a 15008 x g (centrifuga Avanti TMJ-25, Beckman Instruments Inc., Fullerton, CA, EUA). O sobrenadante foi filtrado através de um filtro de papel nº 1 Whatman. Ao resíduo sólido foram acrescentados mais 5 mL de metanol 80% e os processos de homogeneização, centrifugação e filtração foram repetidos. Os extratos metanólicos foram unidos em um balão volumétrico e o conteúdo completado para de 10 mL. O extrato metanólico obtido foi utilizado para análise de compostos fenólicos total e flavonóides totais.

2.2.2 Compostos fenólicos totais

Os compostos fenólicos totais (CTF) foi determinado de acordo com Patras et al. (2009) usando o reagente Folin-Ciocalteu. 0,5 mL de extrato metanólico, 0,5 mL de Folin-Ciocalteu e 2,0 mL de Na₂CO₃ 20% foram adicionados a um balão volumétrico e o volume completado para 25 mL com água destilada e, em seguida, as amostras foram deixadas no escuro por 60 min à temperatura ambiente. A absorbância da amostra foi lida a 735 nm em espectrofotômetro (CECIL CE2021; Cecil Instruments Ltd., Cambridge, UK), utilizando uma curva de calibração de ácido gálico (1-40 mg/L) como padrão. Os resultados foram expressos como mg de ácido gálico equivalente por 100g de peso fresco da amostra.

2.2.3 Flavonóides totais

O teor de flavonóides totais das amostras foram determinados por espectrofotometria de acordo com Djeridane et al. (2006), com algumas modificações. O método é baseado na formação de um complexo de alumínio-flavonóides, tendo o máximo de absorvidade em 430 nm. Uma curva de calibração de rutina (0,2-3,0 mg/L) foi utilizada como padrão. 1,0 mL de extrato metanólico foi homogeneizado com 1,0 mL de solução metanólica de cloreto de alumínio 2%. Após 15 min no escuro a temperatura ambiente, a absorbância foi medida em 430 nm, com um espectrofotômetro (CECIL CE2021; Cecil Instruments Ltd., Cambridge, UK) e os teores de flavonóides foram expressos em mg de rutina/100g de peso fresco da amostra.

2.3 Determinação e quantificação individualizada dos compostos carotenóides mediante HPLC-DAD

O processo de extração, saponificação e quantificação de carotenos individuais ocorreram segundo metodologia descrita por Cortés et al. (2003).

2.3.1 Extração e saponificação de carotenos

Os carotenos individuais foram extraídos de uma amostra de 0,5 g de abóbora liofilizada com 0,025g terc-butil hidroxi tolueno (BHT); 0,050 g de hidroxicarbonato de magnésio e 35 ml de etanol:hexano (4:3, v/v), a mistura

foi mantida sob agitação por 15 min em frasco âmbar sem a presença de luz. Após a extração a amostra foi filtrada á vácuo através de um filtro de papel nº1Whatman. O resíduo foi filtrado e lavado com 35 mL de etanol/hexano (4:3, v/v), 30 mL de etanol e 50 mL de hexano. Todos os líquidos filtrados foram combinados em um funil de decantação e lavados três vezes com 50 mL de água e duas vezes com 50 mL de solução de NaCl 10%, alternadamente. A fase aquosa foi descartada e a fase orgânica evaporada a 40 °C em rotaevaporador. Posteriormente a evaporação, o resíduo foi reconstituído e saponificado com 10 mL de dietil éter e 10 mL de KOH metanólico (0,5 M) com BHT 0,1% (p/v), a solução foi mantida em agitação por 35 min sob atmosfera inerte (N₂) em temperatura ambiente e protegida da luz. Após a saponificação, foi adicionado 20 mL de dietil éter, e a solução foi lavada como descrito anteriormente. Para garantir que a água seria totalmente eliminada, foram adicionados 10 mL de etanol absoluto e evaporados a 45 °C em rotoevaporador. O resíduo seco foi dissolvido em 4 mL de dietil éter e colocados em um frasco de vidro âmbar, o solvente foi evaporado com N₂, e a amostra foi armazenada a -35 °C até o momento da análise. Para a determinação cromatográfica, o resíduo foi reconstituído em 1,0 mL de metanol éter metílico:terc-butil - TBME (7:3, v / v).

2.3.2 Condições cromatográficas

O sistema HPLC foi equipado com um controlador 600E e um detector de absorvância 717 (Waters, Milford,MA), trabalhando em 460 nm. As amostras foram introduzidas em uma coluna de fase reversa C18 Waters Spherisorb® ODS2 (5 µm) de aço inoxidável (4,6x 250 mm) através auto injector equipado com um loop de amostra (20 µL). A vazão foi fixada em 1,0mL / min a 30°C. As colunas foram eluidas com as fases móveis de solução metanólica 0,1 M acetato de amônio e TBME. Os carotenóides foram quantificados por comparação com padrões externos de β-caroteno, α-caroteno, β-caroteno, zeaxantina, luteína e β-criptoxantina.

2.4 Vitamina C

2.4.1 Extração da vitamina C

O procedimento de extração foi baseado em um método descrito por Odriozola-Serrano et al. (2007) com algumas modificações. Uma porção de abóbora liofilizada de 0,5 g foi adicionada em 10 mL de uma solução contendo 45 g/L de ácido metafosfórico e 7,2 g/L de DTT (DL-1,4-Dithiothreitol). A mistura foi homogeneizada (Ultraturrax – IKA + 25 digital-Germany) por 2 min, 10200 rpm em banho de gelo, posteriormente centrifugada (centrifuga Avanti™ J-25, Beckman Instruments Inc., Fullerton, CA, USA) a 15008 x g por 15 min a 5 °C. O sobrenadante foi filtrado através de um filtro de papel Whatman nº 1. A amostra foi, então, refiltrada por uma membrana Millipore de 0,45 µm e congelada a -35°C até o dia da análise em HPLC.

2.4.2 Condições cromatográficas

O sistema HPLC foi equipado com um controlador 600E e um detector de absorvância 486 (Waters Milford, MA) trabalhando em 254 nm. As amostras foram introduzidas na coluna em frações de 25 µL através de um injetor manual. A separação do ácido ascórbico foi realizada com uma coluna de fase reversa C18 Spherisorb® ODS 2 (5 µm) de aço inoxidável (4,6 centímetros mm × 250 mm). A fase móvel utilizada foi uma solução de 0,01% de ácido sulfúrico com pH ajustado a 2,6, a vazão foi fixada em 1,0 mL / min, a temperatura ambiente. Para a quantificação de ácido ascórbico da amostra foi construída uma curva padrão com sete níveis de calibração de ácido ascórbico (0, 2, 5, 10, 50, 100, 500 mg/L).

2.5 Atividades antioxidantes: hidrofílica e lipofílica

A atividade antioxidante hidrofílica e lipofílica dos pedaços de abóbora foram avaliados após uma extração constituída de três etapas utilizando um método validado por Pinilla et al. (2005). Primeiro, 10 mL de tampão fosfato 0,1M – pH 3, foram adicionados a 0,5g de amostra liofilizada, que foram então homogeneizados (Ultraturrax -IKA+25digital-Germany) a 10200 rpm por 2min em banho de gelo. A mistura foi centrifugada por 15 min a 29416 x g, 5°C (Avanti™ J-25, Beckman Instruments Inc., Fullerton, CA, EUA), o

sobrenadante foi filtrado e mantido no escuro. Em seguida, o sedimento foi homogeneizado com 10mL de tampão fosfato 0,1M - pH7,4 e centrifugado nas mesmas condições anteriores. O extrato aquoso foi obtido mesclando as duas porções extraídas. O extrato orgânico (lipofílico) foi obtido adicionando 10 mL de tetrahidrofurano (THF) ao sedimento restante das extrações aquosas, a amostra foi então homogeneizada, e em seguida centrifugada a 15008 x g por 15 min a 5 °C. Os sobrenadantes foram medidos separadamente como extrato orgânico e extrato aquoso.

A atividade antioxidante das amostras foi avaliada utilizando o método 2,2-difenil-1,1-picrilhidrazil (DPPH) de acordo com Azizah et al. (2009) com pequenas modificações. A atividade de eliminação do radical hidrofílico (H-RSC) e a atividade de eliminação radical lipofílico (L-RSC) foram avaliadas através da reação ocorrida numa mistura constituída por alíquotas de extrato aquoso ou extrato orgânico, e uma solução metanólica de DPPH (0,0025%) após 30 min no escuro a temperatura ambiente.

A absorvância foi medida em 515 nm utilizando espectrofotômetro (CECIL CE2021; Cecil Instruments Ltd., Cambridge, UK). Os resultados foram expressos em porcentagem de redução do DPPH inicial. Aplicando um teste da seguinte forma:

$$\text{DPPH efeito de redução(\%)} = [(A_0 - A) / A_0] \times 100$$

Onde A_0 é a absorvância do controle em $t = 0$ min, e A_t é a absorção do antioxidante em $t = 15$ min.

2.6 Análise estatística

As diferentes formas de estabilização e tratamentos (que variou a intensidade do campo elétrico, número de pulsos), aplicados nos pedaços de abóbora foram feitos em duplicata e as análises dos compostos relacionados com a saúde e atividades antioxidantes foram realizadas em triplicata. O sistema de análise estatística JMP® 8.0.1 (SAS Institute Inc, Cary, NC, USA) foi utilizado para avaliar os efeitos de diferentes parâmetros: intensidade do campo elétrico, número de pulsos, tempo e formas de estabilização, sobre os compostos relacionados (compostos fenóis e flavonóis totais, luteína, α -caroteno, β - caroteno, vitamina C) e atividade antioxidante (hidrofílica e lipofílica). Os resultados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e

a média dos valores comparados com o teste de comparações múltiplas de Tukey. As diferenças foram consideradas estatisticamente significativas com $p \leq 0,05$.

As diferentes formas de estabilização e tratamentos (que variou a intensidade do campo elétrico, número de pulsos), aplicados nos pedaços de abóbora foram feitos em duplicata e as análises dos compostos bioativos e atividade antioxidante (hidrofílica e lipofílica) em triplicata. Para avaliar os efeitos de diferentes parâmetros: intensidade do campo elétrico, número de pulsos, tempo e formas de estabilização, sobre os compostos bioativos (compostos fenóis e flavonóis totais, luteína, α -caroteno, β -caroteno, vitamina C) e atividade antioxidante (hidrofílica e lipofílica), os resultados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e regressão. Para os fatores qualitativos as médias dos valores foram comparadas com o teste de comparações múltiplas de Tukey a 5% de probabilidade. Para o fator quantitativo (tempo) os modelos de regressão foram escolhidos baseados na significância dos coeficientes de regressão. Os sistemas de análise estatística JMP® 8.0.1 (SAS Institute Inc, Cary, NC, USA) e SAS® 9.0 (licenciado pela Universidade Federal de Viçosa) foram utilizados.

3. Resultados e discussão

O conteúdo inicial dos compostos bioativos e das atividades antioxidantes hidrofílica e lipofílica dos purês de abóbora não tratados com CEPMI e submetidos a pasteurização ou ao congelamento podem ser visualizados na Tabela 1. De uma forma geral a pasteurização causou maiores perdas dos compostos bioativos, resultando em menor atividade antioxidante em relação ao purê congelado.

Tabela 1. Conteúdo inicial de compostos bioativos e atividade antioxidante em purê de abóbora submetido a campo elétrico pulsado de moderada intensidade e estabilizados com pasteurização ou congelamento.

Composto bioativo/atividade antioxidante	Purê de abóbora não tratado	
	Congelado**	Pasteurizado**
Compostos fenólicos totais (mg/100g)	2,28 ± 0,146 ^a	2,84 ± 0,155 ^a
Compostos flavonóides totais (mg/100g)	1,21 ± 0,078 ^a	1,03 ± 0,093 ^b
Conteúdo de ácido ascórbico (mg/100g)	1,72 ± 0,329 ^a	0,83 ± 0,078 ^b
Conteúdo de α-caroteno (µg/100g)	0,60 ± 0,041 ^a	0,58 ± 0,017 ^a
Conteúdo β-caroteno (µg/100g)	10,90 ± 1,257 ^a	7,29 ± 0,451 ^b
Conteúdo de luteína (µg/100g)	0,25 ± 0,027 ^a	0,12 ± 0,000 ^b
Atividade antioxidante hidrofílica (%)	82,79 ± 0,667 ^a	81,54 ± 1,518 ^a
Atividade antioxidante lipofílica (%)	42,91 ± 0,813 ^a	37,01 ± 0,851 ^b

* *Conteúdo inicial: média das repetições ± desvio padrão
Médias seguidas da mesma letra na linha não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

As equações de regressão e os coeficientes de determinação estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Equações ajustadas das propriedades compostos fenólicos totais, flavonóides totais, vitamina C, β -caroteno, luteína, atividade antioxidante (hidro e lipofílica) para os diferentes tratamentos e coeficientes de determinação.

Propriedade	Tratamento	Equações ajustadas/R ²
Compostos fenólicos totais	T2	$y = 0,0249x^4 - 0,329x^3 + 1,1087x^2 - 0,5314x + 4,878 / R^2 = 0,95$
	T4	$y = -0,0127x^4 + 0,1591x^3 - 0,5936x^2 + 0,3162x + 2,8779 / R^2 = 0,96$
	T5	$y = 0,033x^4 - 0,4369x^3 + 1,6866x^2 - 2,3037x + 9,2357 / R^2 = 0,95$
	T6	$y = 0,0096x^4 - 0,1482x^3 + 0,7633x^2 - 1,9845x + 7,1893 / R^2 = 0,96$
Flavonóis totais	T1	$y = 0,0038x^3 - 0,0538x^2 + 0,1188x + 1,1881 / R^2 = 0,97$
	T2	$y = 0,0031x^3 - 0,0221x^2 - 0,1027x + 1,7482 / R^2 = 0,96$
	T3	$y = 0,0028x^3 - 0,0372x^2 + 0,0354x + 1,3492 / R^2 = 0,99$
	T4	$y = 0,009x^3 - 0,1017x^2 + 0,1525x + 1,0232 / R^2 = 0,94$
	T4	$y = 0,0034x^3 - 0,0259x^2 - 0,1176x + 1,3303 / R^2 = 0,96$
	T6	$y = 0,0091x^3 - 0,0858x^2 + 0,0084x + 1,401 / R^2 = 0,99$
Vitamina C	T1	$y = -0,0036x^4 + 0,053x^3 - 0,2378x^2 + 0,2318x + 1,7121 / R^2 = 0,97$
	T2	$y = 0,0187x^4 - 0,326x^3 + 2,0118x^2 - 5,2251x + 6,4901 / R^2 = 0,99$
	T3	$y = -0,0079x^4 + 0,1165x^3 - 0,5043x^2 + 0,1544x + 3,7271 / R^2 = 0,99$
	T4	$y = 0,0062x^4 - 0,0929x^3 + 0,4598x^2 - 0,8762x + 0,7851 / R^2 = 0,78$
	T5	$y = 0,0013x^4 - 0,0338x^3 + 0,2936x^2 - 1,008x + 1,2076 / R^2 = 0,99$
	T6	$y = 0,0118x^3 - 0,1019x^2 - 0,1008x + 1,7918 / R^2 = 0,99$
β - caroteno	T4	$y = 0,045x^3 - 0,4512x^2 + 0,489x + 7,3029 / R^2 = 0,95$
	T5	$y = -0,0436x^3 + 0,679x^2 - 3,6335x + 10,357 / R^2 = 0,99$
	T6	$y = -0,0683x^3 + 0,7591x^2 - 2,8725x + 8,9727 / R^2 = 0,91$
Luteína	T1	$y = 5E-05x^3 - 0,0038x^2 - 2E-06x + 0,2357 / R^2 = 0,98$
	T2	$y = -0,0006x^3 + 0,011x^2 - 0,0884x + 0,4422 / R^2 = 0,98$
	T3	$y = -0,0026x^3 + 0,0327x^2 - 0,1388x + 0,323 / R^2 = 0,94$
	T4	$y = 0,0013x^3 - 0,0117x^2 + 0,0033x + 0,1237 / R^2 = 0,96$
	T5	$y = 0,0008x^3 - 0,0057x^2 - 0,0275x + 0,2082 / R^2 = 0,98$
	T6	$y = 0,0005x^3 - 0,0047x^2 + 0,0043x + 0,0599 / R^2 = 0,96$
Atividade antioxidante hidrofílica	T2	$y = -0,0354x^4 + 0,3153x^3 - 0,1824x^2 - 3,5257x + 84,03 / R^2 = 0,92$
	T3	$y = 0,1183x^4 - 1,6193x^3 + 6,6615x^2 - 8,4058x + 82,417 / R^2 = 0,85$
	T4	$y = 0,0365x^4 - 0,9867x^3 + 6,7615x^2 - 12,353x + 81,708 / R^2 = 0,99$
	T5	$y = 0,0473x^4 - 0,7514x^3 + 3,9758x^2 - 7,0987x + 83,07 / R^2 = 0,88$
	T6	$y = 0,0834x^4 - 1,4456x^3 + 8,0219x^2 - 14,125x + 84,006 / R^2 = 0,89$
Atividade antioxidante lipofílica	T2	$y = -0,1955x^3 + 2,6371x^2 - 11,875x + 56,568 / R^2 = 0,95$
	T3	$y = -0,2073x^3 + 2,1296x^2 - 5,9107x + 46,211 / R^2 = 0,82$
	T4	$y = -0,1159x^3 + 0,9261x^2 + 0,8319x + 37,054 / R^2 = 0,94$
	T6	$y = -0,2593x^3 + 3,001x^2 - 9,1045x + 47,65 / R^2 = 0,74$

T1 = Purê não tratado congelado; T2 = 0,4 kV/cm congelado; T3 = 2,0 kV/cm congelado; T4 = Purê não tratado pasteurizado; T5 = 0,4 kV/cm pasteurizado; T6 = 2,0 kV/cm pasteurizado; A = purês cogelados; B = purês pasteurizados

3.1 Conteúdo de fenóis totais

Nos purês estabilizados com o congelamento ou pasteurização, o conteúdo de fenóis totais (Figura 2) apresentou-se estatisticamente maior ($p < 0,05$) no purê produzido com os pedaços de abóbora submetidos ao tratamento de CEPMI em relação ao purê produzido com a matéria prima

não tratada. Nas amostras congeladas (Figura 2 A) as tratadas com 0,4 kV.cm⁻¹(T2) o conteúdo dos compostos fenólicos totais foi maior 111% e as submetidas a 2,0 kV.cm⁻¹ (T3) foi maior 226% (p<0,05), comparados ao purê produzido com os pedaços de abóbora não tratados (T1). O tempo não foi significativo quanto ao conteúdo de fenóis totais nas amostras tratadas com 2,0 kV.cm⁻¹ (T3) e nas amostras não tratadas (T1). Nas pasteurizadas (Figura 2 B) o conteúdo de fenóis totais apresentou-se maior 304% e 166% (p<0,05) nas amostras tratadas com 0,4 kV.cm⁻¹ (T5) e 2,0 kV.cm⁻¹ (T6), respectivamente em relação ao purê produzido com os pedaços de abóbora não tratadas (T4). Isso pode ser devido ao estímulo à biossíntese desses componentes provocado pelo estresse do tratamento de campo elétrico pulsado. Pois essa tecnologia, afeta o metabolismo, incluindo uma explosão oxidativa com a conseqüente geração de espécies reativas de oxigênio (ROS) (Sabri et al., 1996) e conseqüentemente, estímulo à produção de metabólitos secundários com propriedades antioxidantes (Gueven e Knorr, 2011). A produção de metabólitos secundários mediante a indução de estresses foi realizada com sucesso em cultivos celulares (YE et al., 2004) e, mais recentemente, em produtos vegetais (GÓMEZ-GALINDO et al., 2009).

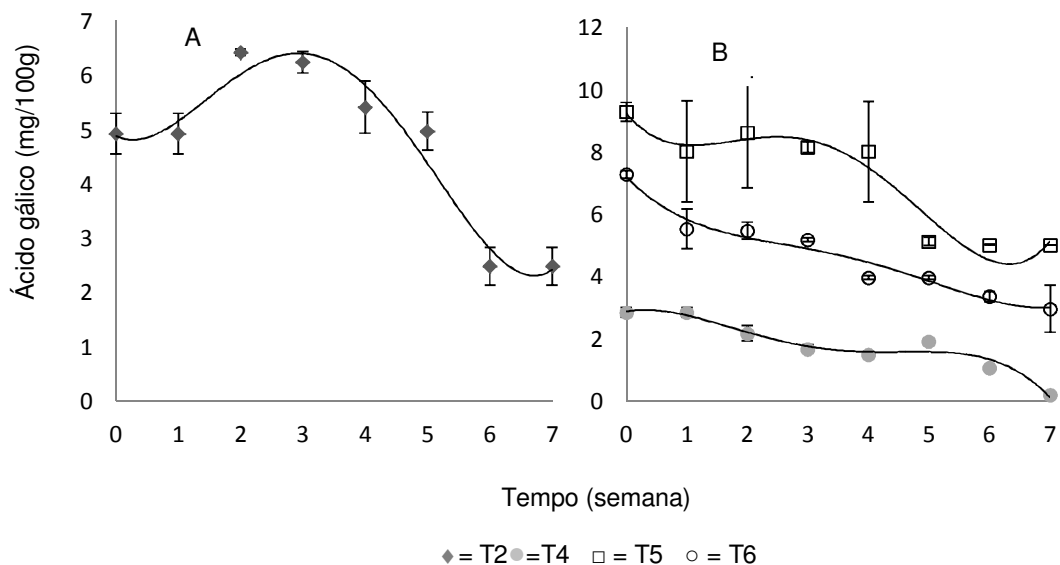


Figura 2. Compostos fenólicos totais em purê proveniente de pedaços de abóbora tratado e não tratados com CEPMI congelados ou pasteurizados.

T2 = 0,4 kV/cm congelado; T4 = Purê não tratado pasteurizado T5 = 0,4 kV/cm pasteurizado; T6 = 2,0 kV/cm pasteurizado; A = purê congelado; B = purês pasteurizados

Durante o período de armazenamento ocorreu, de uma forma geral, diminuição dos compostos. Porém, o conteúdo desse nutriente se mantém maior nas amostras provenientes dos purês tratados com CEPMI. A degradação de compostos fenólicos, durante o armazenamento pode estar associada com a atividade da enzima peroxidase. Foi demonstrado que o tratamento térmico pode inibir parcialmente peroxidase em suco de tomate. Aguiló-Aguayo et al. (2008) relataram atividades residual da peroxidase de 10% e 21% em sucos de tomate tratados a 90 °C por 60s e 30s, respectivamente.

3.2 Conteúdo de flavonóis totais

O conteúdo de flavonóis totais (Figura 3) apresentou-se estatisticamente maior nos purês produzidos com os pedaços de abóbora submetidos ao tratamento de CEPMI em relação aos purês feitos com a abóbora não tratada. Dentre estes, nas amostras congeladas (Figura 3 A), os provenientes dos pedaços tratados com 0,4 kV.cm⁻¹(T2) apresentou

conteúdo 27,18% superior ($p < 0,05$) e aqueles tratados $2,0 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$ (T3) 5,83% ($p < 0,05$) em relação a amostra produzida com os pedaços de abóbora não tratados (T1). Durante o período de armazenamento o purê produzido com os pedaços tratados com $0,4 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$ (T2) mantém maior ($p < 0,05$) conteúdo de flavonóis totais, sendo estatisticamente superior às outras amostras (T1 e T3), as quais não diferem estatisticamente entre si ($p > 0,05$).

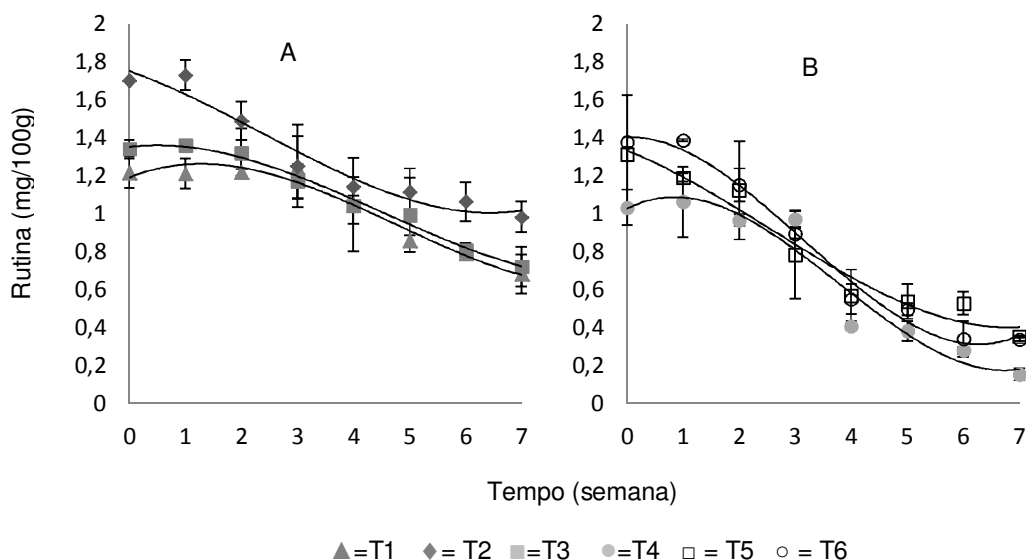


Figura 3. Conteúdo de flavonóis totais em purê proveniente de pedaços de abóbora tratado e não tratados com CEPMI congelados ou pasteurizados.

T1 = Purê não tratado congelado; T2 = $0,4 \text{ kV}/\text{cm}$ congelado; T3 = $2,0 \text{ kV}/\text{cm}$ congelado; T4 = Purê não tratado pasteurizado; T5 = $0,4 \text{ kV}/\text{cm}$ pasteurizado; T6 = $2,0 \text{ kV}/\text{cm}$ pasteurizado; A = purês cogelados; B = purês pasteurizados

Nas amostras pasteurizadas (Figura 3 B) os purês produzidos com os pedaços tratados com CEPMI (T5 e T6) apresentaram conteúdo de flavonóis totais 23,85%, em média, maior ($p < 0,05$) do que os purês produzidos com os pedaços não tratados (T3), sendo que T5 e T6 não diferiram estatisticamente entre si ($p > 0,05$). Durante o armazenamento as amostras tratadas T5 e T6 mantêm maior conteúdo desse nutriente em relação a

Até a primeira semana de armazenamento, após esse período não existe diferença estatística entre elas ($p > 0,05$).

O estresse causado pelo corte e pelo CEPMI pode desencadear a produção de compostos flavonóides totais, pois já foi estudado que o estresse abiótico gera danos celulares que desencadeia a produção desses compostos bioativos (Gueven e Knorr, 2011). Ao analisar esses compostos durante o período de armazenamento, observa-se que durante a primeira semana não ocorrem variações significativas, no entanto a partir da segunda semana houve decréscimo no conteúdo de flavonóis totais em todas as amostras. Sendo que o conteúdo apresentado pelos purês estabilizados com a pasteurização foi estatisticamente menor que os mesmos congelados.

3.3 Conteúdo de ácido ascórbico

O conteúdo de ácido ascórbico (Figura 4) nos purês de abóbora submetidos ao tratamento CEPMI e estabilizados com pasteurização ou congelamento apresentou redução ao longo do período de armazenamento em todas as amostras analisadas. No entanto, o congelamento e o tratamento de CEPMI favoreceram a uma melhor manutenção dessa vitamina. A vitamina C é um composto bioativo sensível ao calor e à presença de oxigênio, portanto isso explica as maiores perdas observadas nas amostras pasteurizadas. O tratamento de campo elétrico pulsado ocasiona aberturas de poros (eletroporação) no tecido vegetal levando ao extravasamento de compostos intracelulares, o que poderia explicar o maior conteúdo desse nutriente nas amostras submetidas ao tratamento (Knorr e Angersbach, 1998).

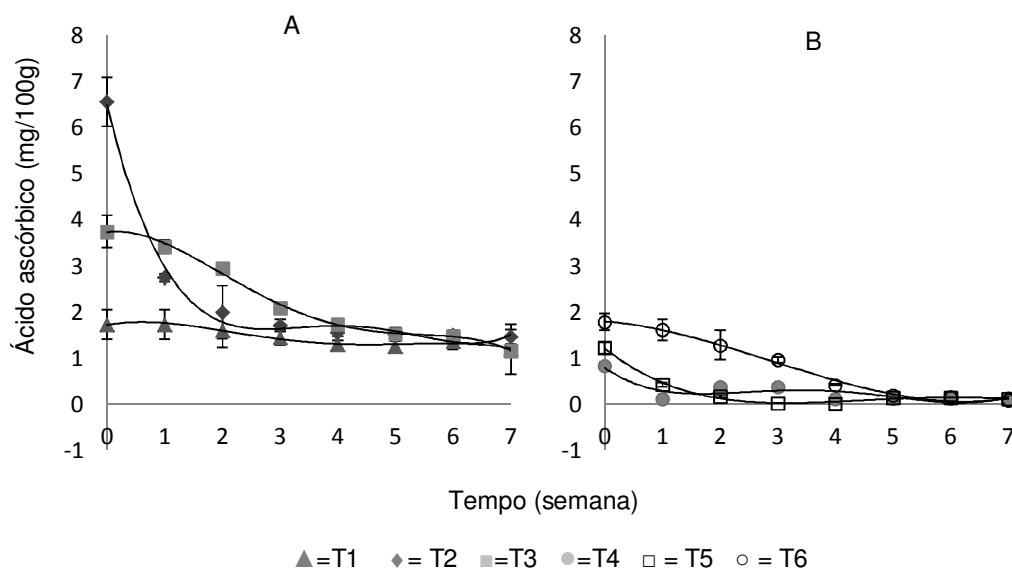


Figura 4. Ácido ascórbico (vitamina C) em purê proveniente de pedaços de abóbora tratado e não tratados com CEPMI congelados ou pasteurizados.

T1 = Purê não tratado congelado; T2 = 0,4 kV/cm congelado; T3 = 2,0 kV/cm congelado; T4 = Purê não tratado pasteurizado; T5 = 0,4 kV/cm pasteurizado; T6 = 2,0 kV/cm pasteurizado; A = purês congelados; B = purês pasteurizados

Dentre as amostras congeladas (Figura 4 A) as tratadas com CEPMI apresentaram valores de vitamina C estatisticamente superiores ao da amostra não tratada (T1), dentre essas, o purê produzido com pedaços de abóbora tratados com $0,4 \text{ kV.cm}^{-1}$ (T2) e $2,0 \text{ kV.cm}^{-1}$ (T3) apresentaram 63,45% e 55,86%, respectivamente, mais vitamina C ($p < 0,05$). Após a terceira semana, não se observou diferença estatística ($p > 0,05$) no conteúdo desse nutriente entre as amostras.

Nos purês estabilizados com a pasteurização (Figura 4 B) logo após o processamento o conteúdo de vitamina C apresentou-se estatisticamente superior ($p < 0,05$) naqueles provenientes dos pedaços de abóbora tratados com $2,0 \text{ kV.cm}^{-1}$ (T6), sendo 185,71% maior do que as outras amostras (T4 e T5), as quais não diferiram entre si ($p > 0,05$). Durante quatro semanas de armazenamento o conteúdo desse nutriente manteve-se superior ($p < 0,05$) nas amostras submetidas ao tratamento de CEPMI (T5 e T6). Porém, após esse período o conteúdo de vitamina C manteve-se sem alterações

significativas em todas as amostras, as quais não diferiram entre si ($p>0,05$). A vitamina C é extremamente sensível, e pode ser afetada por diversos fatores como luz, oxigênio, temperatura, pH e a enzimas degradativas, e isso justifica as perdas observadas nesse estudo.

3.4 Conteúdo de α - caroteno

O conteúdo de α - caroteno nos purês de abóbora pode ser visualizado na Figura 5. O tratamento de CEPMI causou incremento no conteúdo de α - caroteno nos purês estabilizados com o congelamento (Figura 5 A). Os purês congelados produzidos com pedaços de abóbora submetidos ao tratamento de $0,4 \text{ kV.cm}^{-1}$ (T2) apresentaram valores de α - caroteno 14,90% maior ($p<0,05$) e nos tratados com $2,0 \text{ kV.cm}^{-1}$ (T3) o incremento desse nutriente foi de 34,04%, ambos em relação aos purês provenientes da matéria prima não tratada (T1). As amostras submetidas ao tratamento de CEPMI de $2,0 \text{ kV.cm}^{-1}$ (T6) estabilizadas com pasteurização (Figura 5 B) apresentaram conteúdo de α - caroteno estatisticamente ($p<0,05$) maior (25,64%) em relação às amostras não tratadas (T4), sendo que esta última não diferiu da amostra tratada com $0,4 \text{ kV.cm}^{-1}$ (T5).

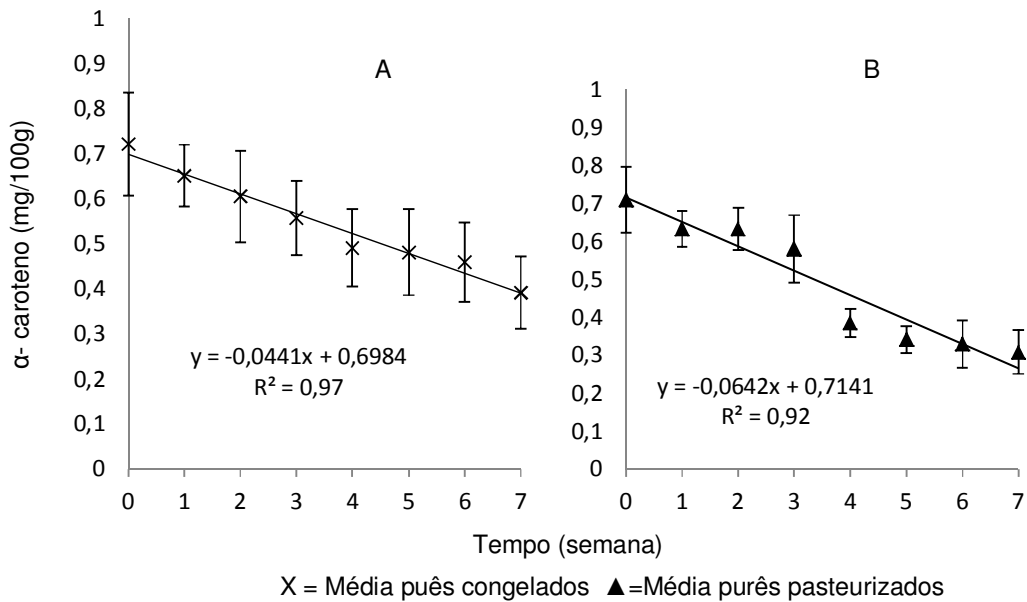


Figura 5. α -caroteno em purê proveniente de pedaços de abóbora tratado e não tratados com CEPMI congelados ou pasteurizados.

A = purês cogelados; B = purês pasteurizados

O tratamento de CEPMI pode ocasionar maior liberação dos componentes dos tecidos das plantas, devido aos processos de eletroporação, levando a uma maior quantificação desses nutrientes, ou pode também estimular as vias de síntese de compostos antioxidantes (Gómez-Galindo et al., 2007).

Durante o período de armazenamento não houve efeito da interação significativa ($p > 0,05$) entre o tratamento e o tempo para as amostras congeladas nem para as pasteurizadas sob o conteúdo de α -caroteno. Provesi et al. (2011), também não observaram alterações significativas na conteúdo de α -caroteno em purê de abóbora durante o período de armazenamento. Esse fato demonstra a estabilidade desse componente nas condições estudadas. Uma vez que existem ligações duplas na cadeia de carbono, os carotenóides são sensíveis a algumas reações, tais como oxidação e isomerização (cis-trans) durante o processamento e armazenamento de alimentos, especialmente devido à luz, calor, ácidos e oxigênio, assim causando a perda de cor e redução da atividade biológica (Rao e Rao, 2007).

3.5 Conteúdo de β -caroteno

O conteúdo de β -caroteno nos purês de abóbora pode ser visualizado na Figura 6. Nas amostras estabilizadas com o congelamento (Figura 6 A), o tratamento de CEPMI promoveu incremento ($p < 0,05$) no conteúdo desse nutriente em relação aos purês produzidos com pedaços de abóbora não tratados, sendo que a amostra proveniente dos pedaços submetidos a $0,4 \text{ kV.cm}^{-1}$ (T2) apresentou o conteúdo 27,33%, e aquelas submetidas a $2,0 \text{ kV.cm}^{-1}$ (T4) o conteúdo 18,13% maior em relação a amostra não tratada (T1). Durante o período de armazenamento ocorreu redução desse nutriente, porém não houve interação significativa entre o tratamento e o tempo, ou seja, as perdas foram estatisticamente iguais em todas as amostras congeladas.

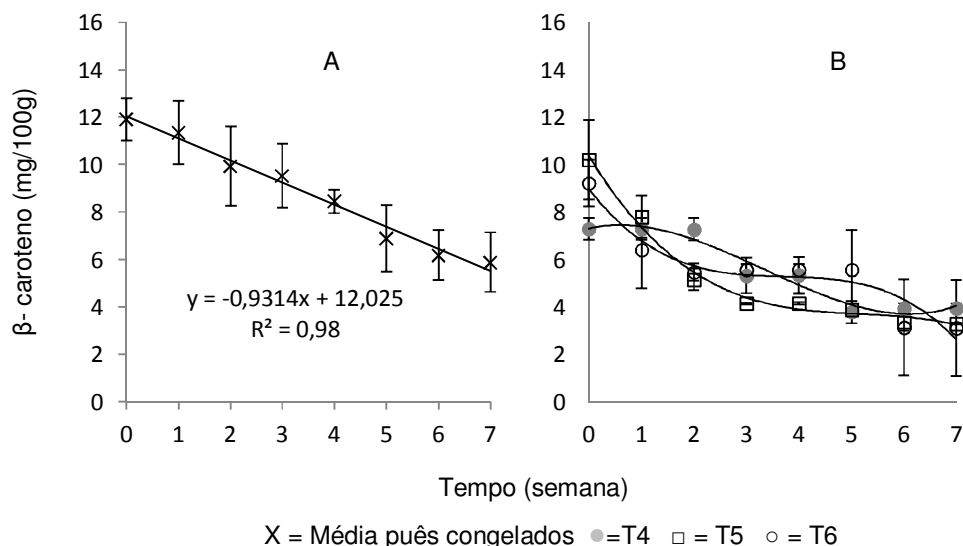


Figura 6. β -caroteno em purê proveniente de pedaços de abóbora tratado e não tratados com CEPMI congelados ou pasteurizados.

T4 = Purê não tratado pasteurizado; T5 = 0,4 kV/cm pasteurizado; T6 = 2,0 kV/cm pasteurizado; A = purês cogelados; B = purês pasteurizados

Para as amostras pasteurizadas, não houve diferença entre as amostras tratadas e não tratadas (Figura 6 B). No entanto, no primeiro dia de análise (tempo zero) as amostras submetidas ao tratamento de 0,4 kV.cm⁻¹ (T5) apresentaram conteúdo de β -caroteno estatisticamente superior (26,47%) em relação a amostra não tratada (T4). Durante o restante do período de armazenamento não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre os purês provenientes da matéria prima tratada ou não tratada com CEPMI, assim como o observado para as amostras congeladas. Comparando as formas de estabilização, o congelamento favoreceu a uma melhor retenção no conteúdo de β -caroteno dos purês de abóbora.

Alguns estudos demonstram perdas de carotenóides durante o processamento e / ou armazenamento (Lin e Chen, 2005). Na verdade, a estabilidade dos carotenóides em alimentos é variável. Isso acontece não só por causa de fatores extrínsecos, tais como a severidade do tratamento térmico, a presença ou ausência de luz, temperatura de armazenamento, a embalagem, dentre outros, mas também por causa das características das

matrizes de alimentos, tais como a sua composição química, o oxigênio dissolvido nas amostras, o tamanho das partículas, e do estado físico do carotenóide no alimento (Marx et al., 2003; Vásquez-Caicedo et al., 2007a). Por exemplo, enquanto na forma cristalina, tal como em sucos de cenoura, os carotenóides tendem a mostrar uma elevada estabilidade, enquanto que dissolvido na forma de gotas de óleo, não existe potencial para a ocorrência de isomerização (Marx et al., 2003).

Outros estudos publicados detectaram relativa estabilidade dos carotenóides durante o armazenamento de alimentos, especialmente provitamínicos caroteno, tais como α -caroteno e β -caroteno, dependendo do oxigênio residual dissolvido na amostra, a incidência de luz e da temperatura durante a armazenagem (Calvo e Santa-Maria, 2008; Vásquez-Caicedo et al., 2007b).

3.6 Conteúdo de luteína

O conteúdo de luteína pode ser visualizada na Figura 7. Nos purês estabilizados com o congelamento (Figura 7 A), aqueles produzidos com os pedaços de abóbora submetidos a $0,4 \text{ kV.cm}^{-1}$ (T2) apresentaram conteúdo de luteína estatisticamente superior ($p < 0,05$) ao purê não tratado (T1), sendo o incremento de 68,75%. A amostra tratada com $2,0 \text{ kV.cm}^{-1}$ (T3) não diferiu da amostra não tratada (T1). Durante o período de armazenamento ocorreu perdas nesse nutriente. Sendo que manteve-se a mesma proporção inicial, ou seja, as amostras submetidas a $0,4 \text{ kV.cm}^{-1}$ (T2) apresentaram conteúdo de luteína estatisticamente superior as outras amostras, as quais não diferiram entre si.

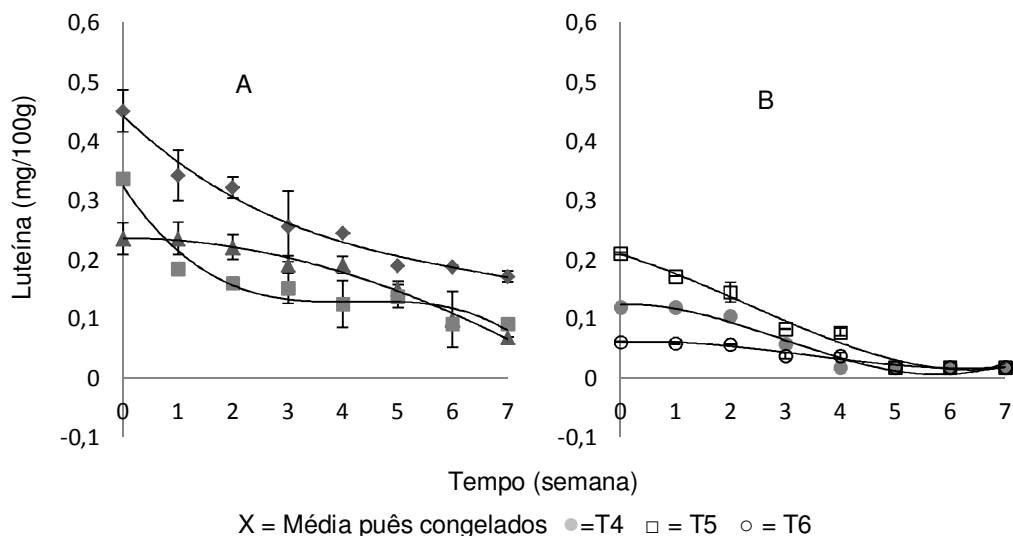


Figura 7. Luteína em purê proveniente de pedaços de abóbora tratado e não tratados com CEPMI congelados ou pasteurizados. T1 = Purê não tratado congelado; T2 = 0,4 kV/cm congelado; T3 = 2,0 kV/cm congelado; T4 = Purê não tratado pasteurizado; T5 = 0,4 kV/cm pasteurizado; T6 = 2,0 kV/cm pasteurizado; A = purês cogelados; B = purês pasteurizados

Nas amostras pasteurizadas (Figura 7 B), os purês provenientes das matérias primas tratadas com $0,4 \text{ kV.cm}^{-1}$ (T5), assim como para as congeladas, apresentaram maiores conteúdos de luteína, seguida da amostra não tratadas (T4) e depois das submetidas a $2,0 \text{ kV.cm}^{-1}$ (T6). O conteúdo dessa xantofila em T5 foi 55,93% maior que em T4. Durante o período de armazenamento, também observou-se perdas desse nutriente, mantendo-se essa porporção até a 4ª semana de armazenamento, a partir de então, o conteúdo de luteína apresenta-se igual em todas as amostras pasteurizadas. Comparando as formas de estabilização, o congelamento foi mais eficiente para manutenção de, em média, 3 vezes mais luteína nos purês de abóbora.

A estabilidade ao cozimento e a esterilização comercial é menor para as xantofilas, como a luteína, o que se justifica devido às suas estruturas com a presença de oxigênio nas moléculas. De Sá e Rodriguez-Amaya (2004) relataram perdas elevadas de violaxantina, que também é uma xantofila, após o cozimento de folhas das plantas verdes. Zepka e

Mercadante (2009) também notaram o desaparecimento de algumas xantofilas durante o tratamento com calor de cajus. Resultados semelhantes foram descritos por Gama e Sylos (2007) no processamento de suco de laranja. Uma diminuição no conteúdo de luteína também foi observada em purês de abóbora durante 180 dias de armazenamento por (Provesi et al., 2011).

3.7 Atividades antioxidantes: hidrofílica e lipofílica

As atividades antioxidantes hidrofílica e lipofílica dos purês de abóbora podem ser visualizadas nas Figuras 8 e 9, respectivamente. Nas amostras estabilizadas com o congelamento, aquelas provenientes dos pedaços de abóbora submetidos o tratamento de CEPMI apresentaram atividade antioxidante hidrofílica (Figura 8 A) estatisticamente superior ($p < 0,05$) à amostra não tratada (T1), sendo a atividade antioxidante hidrofílica 2,33% e 5,69% maior nas amostras T2 e T3, respectivamente, em relação a T1. O tempo não exerceu efeito significativo no parâmetro atividade antioxidante hidrofílica nas amostras não tratadas (T1). A maior atividade antioxidante nas amostras tratadas coincide com maior concentração de vitamina C, fenóis e flavonóides, os quais são antioxidantes hidrossolúveis.

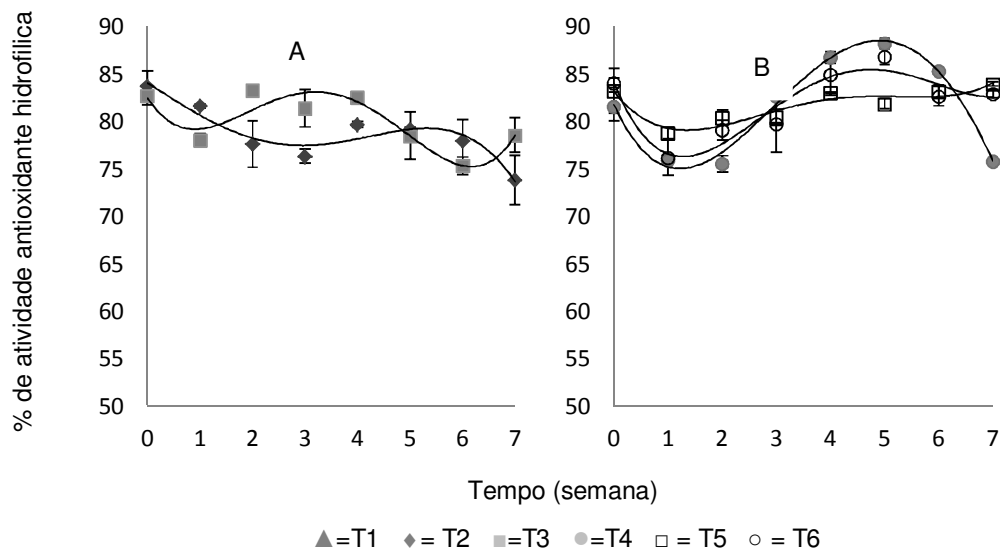


Figura 8. Percentual de atividade antioxidante hidrofílica em purê proveniente de pedaços de abóbora tratados e não tratados com CEPMI congelados ou pasteurizados.

T1 = Purê não tratado congelado; T2 = 0,4 kV/cm congelado; T3 = 2,0 kV/cm congelado; T4 = Purê não tratado pasteurizado; T5 = 0,4 kV/cm pasteurizado; T6 = 2,0 kV/cm pasteurizado; A = purês congelados; B = purês pasteurizados

Nas amostras pasteurizadas (Figura 8 B) não houve diferença quanto à atividade antioxidante hidrofílica entre a amostra não tratada com CEPMI (T2) e a submetida a $2,0 \text{ kV.cm}^{-1}$ (T6), e essa última não diferenciou das amostras tratadas com $0,4 \text{ kV.cm}^{-1}$ (T5). Nas duas últimas semanas de armazenamento não houve diferença estatística entre as amostras tratadas.

A atividade antioxidante lipofílica dos purês de abóbora submetidos ao congelamento (Figura 9 A) não diferiu estatisticamente entre os purês produzidos com pedaços de abóbora tratados com CEPMI (T2 e T3) e os não tratados (T1), e também não foi observada diferença entre as amostras durante o período de armazenamento.

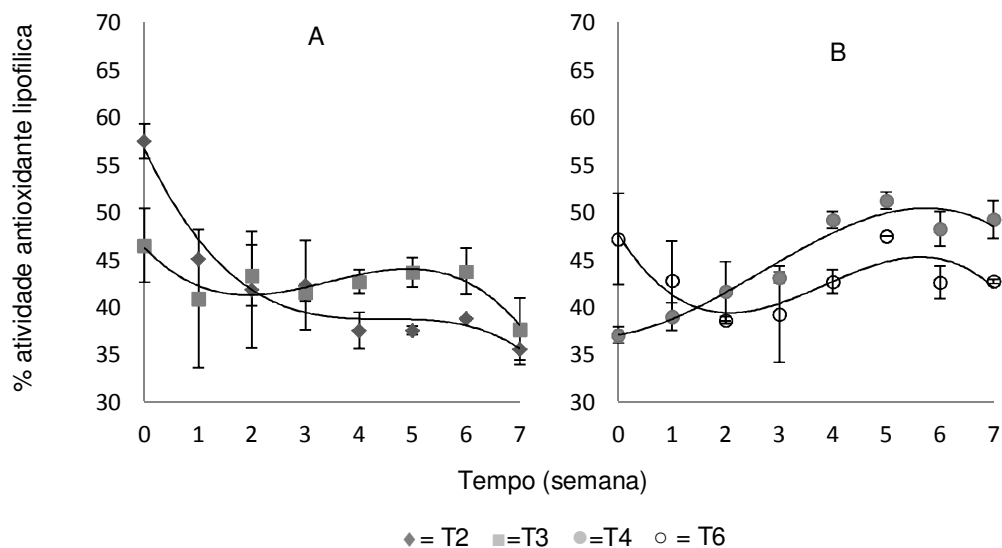


Figura 9. Percentual de atividade antioxidante lipofílica em purê proveniente de pedaços de abóbora tratado e não tratados com CEPMI congelados ou pasteurizados.

T1 = Purê não tratado congelado; T2 = 0,4 kV/cm congelado; T3 = 2,0 kV/cm congelado; T4 = Purê não tratado pasteurizado; T5 = 0,4 kV/cm pasteurizado; T6 = 2,0 kV/cm pasteurizado; A = purês congelados; B = purês pasteurizados

Os valores encontrados para a atividade antioxidante lipofílica das amostras congelada coincidiram com os dados encontrados para os compostos antioxidantes lipofílicos (carotenoides) analisados nesse mesmo trabalho. Porém, o tempo não exerceu efeito significativo no parâmetro atividade antioxidante lipofílica nas amostras não tratada (T1).

Nas amostras pasteurizadas (Figura 9 B), o purê produzido com pedaços de abóbora tratados com $0,4 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$ (T5) apresentou maior atividade antioxidante, seguido do purê proveniente da matéria prima sem tratamento (T4) e posteriormente daqueles feitos com os pedaços de abóbora submetidos a $2,0 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$ (T6). A atividade antioxidante lipofílica em T5 foi estatisticamente superior ($p < 0,05$) em 3,44% em relação a T4. Durante o período de armazenamento, T5 apresentou os maiores valores de atividade antioxidante lipofílica, no entanto diferiu estatisticamente ($p < 0,05$) de T6 apenas na última semana de armazenamento, a qual se apresentou igual a T4. No entanto, o tempo não exerceu efeito significativo no parâmetro

atividade antioxidante lipofílica nas amostras tratadas com $0,4 \text{ kV.cm}^{-1}$ (T5). A maior atividade antioxidante da amostra tratada com $0,4 \text{ kV.cm}^{-1}$ (T5) pode ser explicada pela maior concentração de compostos fenólicos totais apresentados pela mesma, os quais são potentes antioxidantes.

Conclusão

A aplicação de campo elétrico de moderada intensidade promoveu o incremento de compostos bioativos nos pedaços de abóbora, levando a produção de purês uma maior atividade antioxidante. Nos purês provenientes de abóbora tratada com CEPMI observou-se aumento entre 111 – 304% no conteúdo de compostos fenólicos quando comparado ao purê produzido com amostras não tratadas. O incremento de compostos flavonóide foi de 5,83 – 27,85%, o conteúdo de vitamina C apresentou-se 55,86 – 185% maior, de α -caroteno 14,9 – 34,04%, de β -caroteno 18,13 – 27,33%, e luteína de 55,93 – 68,75%. A atividade antioxidante hidrofílica aumentou de 2,33 – 5,69% e a lipofílica 3,44%. Com relação a estabilização dos purês, o emprego do congelamento resultou em melhor manutenção desses compostos e da atividade antioxidante em relação a pasteurização.

Estes resultados sugerem que o tratamento de CEPMI é uma alternativa eficiente e inovadora para aumentar o valor nutricional e a atividade antioxidante em purês de abóbora e, por conseguinte pode agregar valor ao produto e ampliar o consumo de produtos derivados.

Agradecimentos

Este estudo foi realizado com apoio financeiro do Instituto Nacional de Investigação e Tecnologia Agrária e Alimentar (INIA, Espanha) através do projeto RTA 2010-00079-C02-02. Agradecemos a "Coordenação de Aperfeiçoamento de Nível Superior" (CAPES) / Brasil, e a "Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais" (FAPEMIG) que forneceu à autora Mirella Lima Binoti uma bolsa de doutorado e agradecemos também à Universidade de Viçosa (UFV).

Referencias bibliográficas

- AGUILÓ-AGUAYO, I.; SOLIVA-FORTUNY, R.; MARTÍN-BELLOSO, O. Comparative study on color, viscosity and related enzymes of tomato juice processed by pulsed electric fields or heat treatment. *European Food Research and Technology*. v. 227, p. 599–606, 2008.
- ANDRADE-CETTO, A.; HEINRICH, M. Mexican plants with hypoglycaemic effect used in the treatment of diabetes. *Journal of Ethnopharmacol.* v. 99, p. 325-348, 2005.
- AZIZAH, A. H.; WEE, K. C.; AZIZAH, O.; AZIZAH, M. Effect of boiling and stir frying on total phenolics, carotenoids and radical scavenging activity of pumpkin (*Cucurbita moschato*). *International Food Research Journal*. v. 16, p. 45-51, 2009.
- CALVO, M. M.; SANTA-MARÍA, G. Effect of illumination and chlorophylls on stability of tomato carotenoids. *Food Chemistry*. v. 107, p. 1365-1370, 2008.
- CORTÉS, C.; ESTEVE, M. J.; FRIÄGOLA, A.; TORREGROSA, F. Identification and Quantification of Carotenoids Including Geometrical Isomers in Fruit and Vegetable Juices by Liquid Chromatography with Ultraviolet-Diode Array Detection. *J. Agric. Food Chem.* v. 52, p. 2203-2212, 2004.
- DE SÁ, M. C.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Optimization of HPLC quantification of carotenoids in cooked green vegetables – Comparison of analytical and calculated data. *Journal of Food Composition and Analysis*. v. 17, p. 37–51, 2004.
- DJERIDANE, A.; YOUSFI, M.; NADJEMI, B.; BOUTASSOUNA, D.; STOCKER, P.; VIDAL, N. Antioxidant activity of some algerian medicinal plantsextracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*. v. 97, p. 654–660, 2006.
- GAMA, J. J. T.; SYLOS, C. M. Effect of thermal pasteurization and concentration on carotenoid composition of brazilian valencia orange juice. *Food Chemistry*. v. 100, p. 1686-1690, 2007.
- GÓMEZ-GALINDO, F.; DEJMEK, P.; LUNDGREN, K.; RASMUSSEN, A.G.; VICENTE, A.; MORITZ, T. Metabolomic evaluation of pulsed electric field-induced stress on potato tissue. *Planta*. v. 230, p. 469 – 479, 2009.

GUEVEN, A., KNORR, D. Isoflavonoid production by soy plant callus suspension culture. *Journal Food Engineering*. v. 103, p. 237 – 243, 2011.

GWANAMA, C.; BOTHA, A. M.; LABUSCHAGNE, M. T. Genetic effects and heterosis of flowering and fruit characteristics of tropical pumpkin. *Plant Breed*. v. 120, p. 271-272, 2001.

GUEVEN, A.; KNORR, D., Isoflavonoid production by soy plant callus suspension culture. *Journal Food Engineering*. v. 103, p. 237- 243, 2011.

KNORR, D.; ANGERSBACH, A. Impact of high-intensity electric field pulses on plant membrane permeabilization. *Trends Food Science and Technology*. v. 9, p. 185-191, 1998.

MARX, M.; STUPARIC, M.; SCHIEBER, A.; CARLE, R. Effects of thermal processing on *trans-cis*-isomerization of b-carotene in carrot juices and carotenecontaining preparations. *Food Chemistry*. v. 83, p. 609-617, 2003.

ODRIOZOLA-SERRANO, I.; HERNÁNDEZ-JOVER, T.; MARTÍN-BELLOSO, O. Comparative evaluation of UV-HPLC methods and reducing agents to determine vitamin C in fruits. *Food Chem*. v. 105, p. 1151-1158, 2007.

ODRIOZOLA-SERRANO, I.; AGUILIO-AGUAYO, I.; SOLIVA-FORTUNY, R.; MARTÍN-BELLOSO, O. Pulsed electric fields processing effects on quality and health-related constituents of plant-based foods. *Trends in Food Science & Technology*. xx, p.1- 10, 2011.

PATRAS, A., BRUTON, N., DA PIEVE., BUTLER, F., DOWNEY, G. Effect of thermal and high pressure processing on antioxidant activity and instrumental colour of tomato and carrot purees. *Innovative Food Science & Emerging Technology*. v. 10, p. 16-22, 2009.

PINILLA, M. J.; PLAZA, L.; SÁNCHEZ-MORENO, C.; DE ANCOS, B.; CANO, M. P. Hydrophilic and Lipophilic Antioxidant Capacities of Commercial Mediterranean Vegetable Soups (Gazpachos). *Journal of Food Science*. v. 70, n. 1, p. 60-65, 2005.

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

RAO, A. V.; RAO, L. G. Carotenoids and human health. *Pharmacological Research*. v. 55, p. 207–216, 2007.

RIVAS, A.; RODRIGO, D.; MARTÍNEZ, A.; BARBOSA-CAÑOVAS, G. V.; RODRIGO, M. Effect of PEF and heat pasteurization on physical-chemical characteristics of blended orange and carrot juice. *LWT-Food Science and Technology*. v. 39, n. 10, p. 1163-1170, 2006.

SABRI, N.; PELISSIER, B.; TEISSIÉ, J. Electroporabilization of intact maize cells induces an oxidative stress. *European Journal of Biochemistry*. v. 238, p. 737 – 743, 1996.

TOEPFL, S.; MATHYS, A.; HEINZ, V.; KNORR, D. Potential of high hydrostatic pressure and pulsed electric fields for energy efficient and environmentally friendly food processing. *Food Reviews International*. v. 22, p. 405-423, 2006.

VÁSQUEZ-CAICEDO, A. L.; SCHILLING, S.; CARLE, R., NEIDHART, S. Effects of thermal processing and fruit matrix on b-carotene stability and enzyme inactivation during transformation of mangoes into purée and nectar. *Food Chemistry*. v. 102, p. 1172-1186, 2007a.

VÁSQUEZ-CAICEDO, A. L.; SCHILLING, S.; CARLE, R.; NEIDHART, S. Impact of packaging and storage conditions on colour and b-carotene retention of pasteurised mango purée. *European Food Research Technology*. v. 224, p. 581-590, 2007b.

YE, H.; HUANG, L.L.; CHEN, S.D.; ZHONG, J.J. Pulsed electric field stimulates plant secondary metabolism in suspension cultures of *Taxus chinensis*. *Biotechnol. Bioeng*. v. 88, p. 788 – 795, 2004.

ZEPKA, L. Q.; MERCADANTE, A. Z. Degradation compounds of carotenoids formed during heating of a simulated cashew apple juice. *Food Chemistry*. v. 117, p. 28–34, 2009.

3 CONCLUSÃO GERAL

O tratamento com campo elétrico pulsado de moderada intensidade possibilitou o aumento do conteúdo de compostos bioativos, e manutenção da vitamina C, e incremento da capacidade antioxidante total em pedaços de abóbora. Ao mesmo tempo em que se mantiveram as características físico-químicas da abóbora minimamente processada e de purês de abóbora, assim como a taxa respiratória e a produção de etileno; e a viscosidade, respectivamente.

O presente estudo sugere que o tratamento de campo elétrico pulsado de moderada intensidade é eficiente para promover o aumento de compostos relacionados à saúde em pedaços de abóbora, resultando em um produto com valor nutricional aumentado capaz de atender a demanda dos consumidores por alimentos mais saudáveis, sendo ainda apto a despertar novas expectativas para a agricultura e para a indústria.