



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

ELAINE CRISTINA MACIEL PORTO

EFEITO DA APLICAÇÃO DE TECNOLOGIAS NÃO TÉRMICAS SOBRE A
COMPOSIÇÃO, CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E ATIVIDADE
ENZIMÁTICA DA ÁGUA DE COCO

FORTALEZA

2020

ELAINE CRISTINA MACIEL PORTO

EFEITO DA APLICAÇÃO DE TECNOLOGIAS NÃO TÉRMICAS SOBRE A
COMPOSIÇÃO, CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E ATIVIDADE
ENZIMÁTICA DA ÁGUA DE COCO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Área de concentração: Processamentos Não-térmicos de Alimentos.

Orientadora: Profa. Dra. Sueli Rodrigues.
Coorientadora: Dra. Thatyane Vidal Fonteles.

FORTALEZA

2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- P881e Porto, Elaine Cristina Maciel.
Efeito da aplicação de tecnologias não térmicas sobre a composição, características físico-químicas e atividade enzimática da água de coco / Elaine Cristina Maciel Porto. – 2020.
73 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Fortaleza, 2020.
Orientação: Profa. Dra. Sueli Rodrigues.
Coorientação: Profa. Dra. Thatyane Vidal Fonteneles.
1. Quimiometria. 2. RMN. 3. Peroxidase. 4. Polifenoloxidase. 5. Compostos fenólicos. I. Título.
CDD 664
-

ELAINE CRISTINA MACIEL PORTO

EFEITO DA APLICAÇÃO DE TECNOLOGIAS NÃO TÉRMICAS SOBRE A
COMPOSIÇÃO, CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E ATIVIDADE
ENZIMÁTICA DA ÁGUA DE COCO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Área de concentração: Processamentos Não-térmicos de Alimentos.

Aprovada em: 27/04/2020.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Sueli Rodrigues (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dr. Ebenezer de Oliveira Silva
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA)

Prof. Dr. Edy Sousa de Brito
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA)

A Deus.

Aos meus amados pais, Wilson e Izabel.

A minha querida avó Maria Porto e ao meu
saudoso avô Aldo Porto (*in memoriam*).

AGRADECIMENTOS

À Deus, meu refúgio e minha fortaleza, pela dádiva da vida e da sabedoria. Ele é o grande autor e idealizador deste projeto. À Ele toda honra e toda glória!

Aos meus pais, Wilson e Izabel, pelo amor incondicional, por acreditarem em mim em todo momento e por todo esforço e investimento dedicados à minha formação. Esta conquista é de vocês. Serei eternamente grata! Aos meus demais familiares, minhas avós Maria Porto e Maria Amélia, tios e primos, que sempre oraram por mim, me apoiaram e incentivaram, estendo essa conquista a vocês também.

À professora Dra. Sueli Rodrigues, pela excelente orientação, pela solicitude, paciência e confiança no meu trabalho, pelas correções e por todo conhecimento compartilhado.

À Dra. Thatyane Vidal Fonteles, pela excelente coorientação, por ser sempre muito solícita e paciente em ajudar, pelo conhecimento compartilhado, além da amizade, apoio e momentos de descontração.

Aos doutores Ebenezer De Oliveira Silva e Edy Sousa De Brito, pelas valiosas colaborações e sugestões para o desenvolvimento deste projeto e por gentilmente aceitarem participar da banca examinadora.

Ao professor Dr. Fabiano André Fernandes, do Departamento de Engenharia Química (DEQ/UFC), pela contribuição para realização deste projeto e pelo conhecimento compartilhado sobre Tecnologias Não Térmicas.

Ao professor Dr. Elenilson Godoy Alves Filho e a Dra. Lorena Mara pelas valiosas contribuições para o desenvolvimento deste projeto e pelo conhecimento compartilhado sobre as técnicas de RMN e análises quimiométricas.

À toda família do LABIOTEC: Rhonyele, Dayana, Ronnyele, Alana, Andressa, Cristiano, Prof. Ítalo, por toda a ajuda, amizade e momentos de descontração. Em especial, ao quarteto Ana Karoline, Priscila, Fátima e Brenda, pela amizade, palavras de conforto, carinho e companheirismo que não se limitaram apenas ao ambiente do laboratório, e se estenderam para a vida. Vocês são especiais e com certeza a caminhada foi mais leve e divertida por estarem ao meu lado.

Um agradecimento especial ao Alex Miranda, meu namorado e amigo, pelo apoio emocional e acadêmico. Pelo tempo que investiu estudando comigo, lendo artigos, sendo paciente e compreensivo. Pela companhia acolhedora nos momentos difíceis, por repetidas vezes me lembrar de que sou capaz, quando eu mesma não acreditava. Por todos os momentos

agradáveis e felizes que me proporcionou durante esse tempo. Seu apoio foi fundamental. Você faz parte dessa conquista!

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de mestrado concedida e apoio financeiro à pesquisa.

Ao Instituto Nacional de Frutos Tropicais (INCT-FT), à Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro à pesquisa.

À Universidade Federal do Ceará, pela estrutura e pela formação desde a graduação até aqui.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

RESUMO

Neste estudo, o efeito das tecnologias não térmicas ozônio, plasma e ultrassom na qualidade da água de coco foi avaliado. Para o processamento por ozônio, as amostras foram submetidas a diferentes cargas de ozônio e temperaturas. Para o processamento por plasma frio atmosférico (PFA), as amostras foram expostas sob diferentes frequências e voltagem. Para o processamento por ultrassom contínuo, inicialmente as amostras foram testadas sob 3 potências diferentes, em passagem única pelo sistema (50, 75 e 100%). Posteriormente, foi elaborado um delineamento experimental variando a potência e o número de ciclos (múltiplas passagens pelo sistema). Foram determinados o pH, sólidos solúveis, acidez titulável, cor, conteúdo de compostos fenólicos e atividade enzimática da água de coco antes e depois dos tratamentos. Os principais compostos também foram determinados por espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN). Nenhum dos processamentos alterou os valores de pH, sólidos solúveis totais, acidez titulável e cor. A análise quimiométrica do conjunto de dados de RMN não mostrou alterações relevantes nos conteúdos de sacarose, α -glicose, β -glicose, frutose, ácido málico, alanina e valina após aplicação de ozônio e PFA. Todos os tratamentos do ozônio promoveram inativação da atividade de POD e não afetaram o conteúdo de compostos fenólicos. Após o PFA, a menor atividade residual de POD foi observada quando a frequência mais alta foi aplicada e pequenas alterações no teor de compostos fenólicos foram observadas. Nenhum dos tratamentos do Ultrassom Contínuo foi eficiente para inativação enzimática, sendo possível observar um pequeno aumento na atividade da peroxidase após o processamento. Diante destes resultados, o ozônio destacou-se como a tecnologia mais indicada para a inativação da água de coco.

Palavras-chave: Quimiometria. RMN. Peroxidase. Polifenoloxidase. Compostos fenólicos.

ABSTRACT

In this study, the effect of ozone, plasma and ultrasound technologies on coconut water quality was evaluated. For ozone processing, the samples were subjected to different ozone loads and temperatures. For processing by atmospheric cold plasma, the samples were exposed under different frequencies and voltages. For continuous ultrasound processing, the samples were initially tested under 3 different powers, in a single pass through the system (50, 75 and 100%). Subsequently, an experimental design was developed varying the power and the number of cycles (multiple passes through the system). The pH, soluble solids, titratable acidity, color, content of phenolic compounds and enzymatic activity of coconut water were determined before and after treatments. The main compounds were also determined by Nuclear Magnetic Resonance (NMR) spectroscopy. None of the processes changed the pH values, total soluble solids, titratable acidity and color. The chemometric analysis of the NMR data set showed no relevant changes in the contents of sucrose, α -glucose, β -glucose, fructose, malic acid, alanine and valine after application of ozone and atmospheric cold plasma. All ozone treatments promoted inactivation of POD activity and did not affect the content of phenolic compounds. After atmospheric cold plasma, the lowest residual POD activity was observed when the highest frequency was applied and small changes in the content of phenolic compounds were observed. None of the Continuous Ultrasound treatments were efficient for enzymatic inactivation and it was possible to observe a small increase in peroxidase activity after processing. In view of these results, ozone stood out as the most suitable technology for the processing of coconut water.

Keywords: Chemometrics. NMR. Non-thermal processing. Peroxidase. Polyphenol oxidase. Phenolic compounds.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
2.1	Coqueiro	14
2.2	Água de coco	15
2.2.1	<i>Produção e Mercado</i>	15
2.2.2	<i>Propriedades Funcionais</i>	15
2.2.3	<i>Composição</i>	16
2.2.4	<i>Processamento e Métodos de Conservação</i>	19
2.3	Tecnologias Não Térmicas	21
2.3.1	Ozônio	21
2.3.1.1	<i>Aspectos Gerais</i>	21
2.3.1.2	<i>Aplicação em Alimentos</i>	22
2.3.2	Plasma Frio	24
2.3.2.1	<i>Aspectos Gerais</i>	24
2.3.2.2	<i>Aplicação em Alimentos</i>	25
2.3.3	Ozônio	27
2.3.3.1	<i>Princípios da Tecnologia Ultrassônica</i>	27
2.3.3.2	<i>Aplicação em Alimentos</i>	28
3	OBJETIVOS	31
4	MATERIAL E MÉTODOS	32
4.1	Preparo da Amostra	32
4.2	Processamento por Ozônio	32
4.3	Processamento por Plasma	34
4.4	Processamento por Ultrassom em Fluxo Contínuo	35
4.5	Análises	37
4.5.1	<i>Espectroscopia de RMN</i>	37
4.5.2	<i>Compostos Fenólicos</i>	38
4.5.3	<i>Análises Quimiométricas</i>	39
4.5.4	<i>Atividade Enzimática</i>	39
4.5.5	<i>pH</i>	40
4.5.6	Cor	40

4.5.7	<i>Sólidos Solúveis Totais (SST)</i>	41
4.5.6	<i>Acidez Titulável (AT)</i>	41
4.5.7	<i>Análises Estatísticas</i>	41
5	RESULTADOS	43
5.1	Espectroscopia RMN	43
5.2	Compostos Fenólicos	48
5.3	Parâmetros Físico Químicos: pH, sólidos solúveis totais (SST), acidez titulável (TA) e cor	51
5.4	Atividade Enzimática	58
6	CONCLUSÃO	62
	REFERÊNCIAS	63

1 INTRODUÇÃO

A água de coco é uma bebida leve, refrescante e natural e seu consumo tem aumentado em diversos países, uma vez que os consumidores estão buscando produtos mais saudáveis e que promovam benefícios à saúde. Uma composição balanceada de água, açúcares e minerais confere à bebida características sensoriais agradáveis e propriedades funcionais, tais como reidratação, reposição de eletrólitos e tratamento de problemas digestivos (AUGUSTO, IBARZ, GARVÍN, & IBARZ, 2015; PRADES, ORNIER, IOP, & AIN, 2012; TAN, CHENG, BHAT, RUSUL, & EASA, 2014).

Após a extração, a água de coco torna-se suscetível a deterioração microbiológica e reações de oxidação promovidas pelas enzimas polifenoloxidase (PPO) e peroxidase (POD), as quais tem como função primária oxidar compostos fenólicos. A degradação desses compostos ocasiona mudanças negativas nas propriedades sensoriais durante a estocagem, como por exemplo a ocorrência de coloração amarela, marrom ou rosada, além de perda do valor nutricional (SANGANAMONI, MALLESH, VANDANA, & SRINIVASA RAO, 2017; SUROWSKY, FISCHER, SCHLUETER, & KNORR, 2013). Tratamentos térmicos são importantes métodos de preservação usados para garantir a estabilidade da água de coco, porém o uso de altas temperaturas promove significantes perdas sensoriais e nutricionais. Além disso, nem sempre inativam enzimas de maneira irreversível. Sucupira et al. (2017), por exemplo, observaram que o processo UHT não preveniu a formação de coloração rosada em água de coco.

Alternativamente, tecnologias não térmicas representam uma mudança promissora no cenário dos processos de preservação de alimentos. Avanços nas pesquisas relacionadas a estas tecnologias tem demonstrado habilidade de estender a vida de prateleira dos produtos alimentícios e obter melhores retenções de nutrientes e atributos sensoriais, comparado a métodos térmicos (MARTÍN-BELLOSO, SOLIVA-FORTUNY, ELEZ-MARTÍNEZ, ROBERT MARSELLÉS-FONTANET, & VEGA-MERCADO, 2014). Estas tecnologias incluem o uso do ozônio, plasma frio e ultrassom.

O ozônio é um gás de odor pungente e destaca-se por seu alto poder oxidante, sendo um forte agente sanitizante com ação sobre bactérias, vírus e protozoários (PANDISELVAM, SUNOJ, MANIKANTAN, KOTHAKOTA, & HEBBAR, 2017). A ozonização pode ser uma alternativa promissora pois é uma tecnologia de aplicação relativamente simples, rápida e barata. O reconhecimento do ozônio como substância GRAS

(geralmente reconhecida como segura) em 1997, seguido da aprovação pelo FDA como antimicrobiano para uso direto em alimentos, expandiu as possibilidades de uso da ozonização na indústria de alimentos (PRABHA, BARMA, SINGH, & MADAN, 2016). Diversos estudos sobre o processamento de sucos de fruta por ozônio, tais como suco de maçã (TORLAK, 2014), suco de pêsego (JARAMILLO-SÁNCHEZ, GARCIA LOREDO, GÓMEZ, & ALZAMORA, 2017), suco de melão *Cantaloupe* (FUNDO et al., 2018a) e suco de laranja (ALMEIDA et al., 2015a), tem sido realizados com o objetivo de inativar ou reduzir o crescimento microbiano e a atividade de certas enzimas, e avaliar os efeitos sobre parâmetros de qualidade e compostos bioativos.

O plasma frio é outra tecnologia não térmica que consiste em um gás ionizado que contém um conjunto de espécies reativas, como elétrons, radicais livres, íons, entre outros, também conhecido como o quarto estado da matéria. O plasma frio atmosférico induzido por descargas elétricas atraiu o interesse da indústria alimentícia devido ao seu potencial de ação no processamento de alimentos sob baixa pressão e baixas temperaturas. O plasma de descarga de barreira dielétrica (DBD) é gerado por uma corrente alternada emitida quando dois eletrodos de metal são mantidos separados usando um material dielétrico, como plástico, quartzo ou cerâmica (CHIZOBA EKEZIE, SUN, & CHENG, 2017).

Estudos tem reportado a eficiência do processamento por plasma frio na inativação de microrganismos em algumas matrizes vegetais assim como resultados positivos sobre a manutenção de atributos de qualidade e valor nutricional (HOU et al., 2019; MAHNOT, MAHANTA, FARKAS, KEENER, & MISRA, 2019; RODRÍGUEZ, GOMES, RODRIGUES, & FERNANDES, 2017a). Além disso, o plasma frio tem sido associado a inativação de enzimas como pectinametilesterase (PME), peroxidase (POD) e polifenoxidase (PPO) (CHUTIA, KALITA, MAHANTA, OJAH, & CHOUDHURY, 2019; TAPPI et al., 2014, 2016a).

O ultrassom é uma tecnologia não convencional com grande potencial de aplicação em diversos processamentos relativos à indústria de alimentos, podendo atuar como tecnologia de preservação. O ultrassom de alta intensidade, que utiliza altas potências (10-1000 W/cm²) e baixas frequências (20-100 kHz), é capaz de inativar microrganismos e enzimas deteriorantes de produtos vegetais devido aos efeitos mecânicos e químicos do fenômeno denominado cavitação acústica (CHEN, ZHANG E YANG, 2020; SORIA E VILLAMIEL, 2010). Estudos mostram que sucos de frutas tratados por ultrassom apresentam melhor retenção de compostos bioativos e nutrientes e menores perdas na qualidade do

produto final (SANTOS, FERNANDES E RODRIGUES, 2018; O'DONNELL et al, 2010). A maioria dos estudos relacionados a preservação de alimentos por ultrassom é desenvolvido em equipamentos que operam em regime de batelada, entretanto, alguns estudos tem demonstrado que processos em que alimentos fluidos circulam em fluxo contínuo apresentam melhor aproveitamento da energia acústica (MONTALBO-LOMBOY et al, 2010; O'SULLIVAN, MURRAY, FLYNN & NORTON, 2015).

Devido a possibilidade de ocorrerem mudanças na composição dos alimentos durante os processamentos, a Ressonância Magnética Nuclear (RMN), uma poderosa ferramenta para análises químicas, tem sido utilizada para avaliar essas mudanças, pois possibilita o estudo da composição química e da dinâmica molecular de alimentos sólidos, líquidos e semissólidos (SOBOLEV et al., 2019). Recentes aplicações de RMN e sistemas alimentares incluem a avaliação do efeito de diferentes métodos de preservação (ELENILSON G. ALVES FILHO et al., 2018a) e a detecção de possíveis adulterações (RICHARDSON et al., 2019). Entretanto, os dados de RMN geram matrizes altamente complexas com uma grande similaridade espectral (SPRAUL, SCHÜTZ, RINKE, et al., 2009). Por isso, metodologias de análise estatística multivariada, como a Quimiometria, são necessárias para um melhor tratamento destes dados (TANG, VASAS, HATZAKIS, & SPYROS, 2019).

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Coqueiro

O coqueiro (*Cocos nucifera*) é considerado uma planta de múltiplas funcionalidades, devido à ampla variedade de produtos que podem ser obtidos a partir de sua exploração. No Brasil, a principal finalidade do cultivo do coqueiro é o fornecimento do coco para agroindústria, que se divide em dois segmentos: a obtenção do coco seco destinado a produção de coco ralado, leite de coco, farinhas e outros derivados, e a obtenção do coco verde/fresco destinado a produção de água de coco (MARTINS & JESUS, 2014).

Dentre as variedades da espécie, duas destacam-se com maior importância agroindustrial e socioeconômica no Brasil: a *Typica*, também chamada Gigante (utilizada para produção de coco seco) e a *Nana* conhecida como variedade anã (ARAGÃO, ASBERNER, CRUZ, 2001). A variedade anã (Fig.1) é a mais indicada para a produção de água de coco. O fruto é colhido ainda imaturo, entre 5 e 7 meses de idade, pois além de apresentar maior rendimento da água, seu sabor é mais agradável ao paladar do consumidor (MARTINS & JESUS, 2014).

Figura 1 - Plantação de coqueiro-anão-precoce com elevado nível de produtividade



Fonte: Ferreira, Fontes, Passos & Bastos (2011).

A formação da água de coco é uma estratégia eco fisiológica do coqueiro que objetiva o armazenamento de substâncias nutritivas de reserva para serem utilizadas como mecanismo de sobrevivência da espécie durante períodos de eventuais estresses ambientais (ARAGÃO, VERENA, & CAMBUI, 2005).

2.2 Água de coco

2.2.1 Produção e Mercado

A produção e o mercado de água de coco no Brasil vêm crescendo significativamente nos últimos 20 anos. Cavalcante (2015) explica que, especialmente a partir de meados de 1990, iniciou-se um processo de reestruturação da produção agrícola brasileira atingindo a cadeia produtiva do coco, visto que este segmento passou de uma produção mais tradicional e de caráter de subsistência para uma agricultura de mercado, reorganizada e modernizada.

Um dos principais fatores que colaborou para esse processo foi o aumento do consumo de água de coco, impulsionado pela crescente busca por alimentos e hábitos mais saudáveis. Para atender à nova demanda, as plantações do coqueiro anão entraram em ampla expansão, até mesmo para regiões não-tradicionais no cultivo do coco. Esse processo também foi influenciado pelo melhoramento de tecnologias de plantio, por novas tecnologias de processamento que permitiram maior estabilidade do produto e pela abertura de mercados no exterior. A melhoria na tecnologia de embalagens (*Tetra Pak*, por exemplo) possibilitou o acondicionamento e estabilidade da água de coco à temperatura ambiente, o que gerou impacto positivo nas exportações (CAVALCANTE, 2015).

De acordo com a FIEC, “os produtos pertencentes à classificação ‘Água de Coco’ são os principais nas relações comerciais do Ceará com o mundo”. No ano de 2018, as exportações de água de coco contabilizaram US\$ 13,8 milhões, classificando o estado como maior exportador de água de coco do Brasil (FIEC, 2018).

2.2.2 Propriedades Funcionais

O consumo de água de coco tem sido cada vez mais associado a qualidade de vida e saúde, pois diversos benefícios nutricionais são atribuídos à sua ingestão. Popularmente, a água de coco é ingerida como substituto da água mineral para saciar a sede. Sua composição química bem equilibrada contendo água, açúcares e minerais confere à bebida característica isotônica natural. No organismo atua na reposição hídrica e na reposição de eletrólitos, recuperando minerais, como sódio e potássio, perdidos através do suor e da urina. Dessa

forma, auxilia na manutenção do equilíbrio dos líquidos no corpo e regula os mecanismos de contração muscular (ARAGÃO, ISBERNER, CRUZ, 2001).

A água de coco também pode ser indicada para reposição hídrica durante ou após atividades físicas intensas. Representa uma alternativa natural às bebidas esportivas, apresentando algumas vantagens como o sabor e aroma agradáveis, a facilidade do consumo em grande quantidade, não causar náuseas ou distúrbios estomacais e a possibilidade de ingestão por indivíduos de qualquer idade (CARVALHO, MAIA, SOUSA, & MAIA JUNIOR, 2006).

2.2.3 Composição

As características funcionais encontradas na água de coco estão estritamente relacionadas à sua composição. Mesmo contendo mais de 90% de água pura, a água de coco é rica em nutrientes. Apresenta-se como uma solução estéril que contém sais minerais, proteínas, açúcares, vitaminas, aminoácidos e uma pequena quantidade de ácidos graxos, o que contribui para um baixo valor calórico, em torno de 44 cal/L. A composição química da água de coco pode variar de acordo com o grau de maturação do fruto, variedade do coqueiro, manejo, condições climáticas e composição do solo. No final da maturação, o volume de água decresce e seu sabor e composição química são alterados (ARAGÃO, ISBERNER, CRUZ, 2001; PRADES et al., 2012). A Tabela 1 apresenta dados físico-químicos e teores dos principais açúcares e minerais presentes na água de coco verde.

Os açúcares são a maior fração dos sólidos solúveis na água de coco. Os principais açúcares que contribuem para o sabor adocicado da água de coco são a frutose, glicose e sacarose. Em geral, ao decorrer da maturação, há um significativo aumento no conteúdo de sacarose (açúcar não redutor) enquanto há um significativo decaimento nos conteúdos de frutose e glicose (açúcares redutores). Essas mudanças ocorrem pela formação gradual de sacarose a partir da ligação glicose-frutose (TAN et al., 2014).

Os minerais são os constituintes da água de coco que vêm em segundo lugar em termos de quantidade. Representam apenas cerca de 0,4 a 1% da composição da água de coco, contudo, a quantidade é suficiente para conferir característica isotônica à bebida. O potássio é o mineral mais abundante durante toda a maturação. Em geral, a quantidade de sódio até a maturação é baixa, e em seguida se incrementa. Outros minerais como cálcio, magnésio e

ferro apresentam-se estáveis durante a maturação (PRADES, ORNIER, et al., 2012; TAN et al., 2014).

Jackson, Gordon, Wizzard, McCook, & Rolle (2004) e Tan et al. (2014) relataram aumento significativo no teor de proteína com a maturação dos frutos e esta tendência pode estar associada ao desenvolvimento do endosperma no fruto. Embora a quantidade de proteína na água de coco seja baixa, sua presença não deve ser desprezada. Durante processamentos térmicos, a interação entre os aminoácidos livres e os açúcares redutores presentes na água de coco configuram a reação de Maillard (escurecimento não enzimático). Os produtos desta reação podem ocasionar mudança de coloração na água de coco, tornando-a sensorialmente indesejável para o consumidor (MOTTRAM, 2007).

Sobre o perfil dos ácidos graxos, os que são de cadeia curta aumentam durante a maturação, enquanto que os de cadeia longa diminuem (ARAGÃO, ISBERNER, CRUZ, 2001; CARVALHO et al., 2006).

A presença de enzimas na água de coco tem sido reportada por diversos autores (CAMPOS, SOUZA, COELHO, & GLÓRIA, 1996; MATSUI, GUT, DE OLIVEIRA, & TADINI, 2008; PRADES, ORNIER, et al., 2012; SANGANAMONI et al., 2017; TAN et al., 2014). A presença dessas enzimas, principalmente polifenoloxidasas (PPO) e peroxidases (POD), é um importante fator a ser considerado, uma vez que suas atividades estão relacionadas a alterações sensoriais indesejáveis.

As polifenoloxidasas são enzimas que contém cobre em seu sítio ativo e que na presença de oxigênio catalisam reações de oxidação de fenóis, que resultam em compostos de cor escura, causando o chamado escurecimento enzimático, um dos maiores problemas enfrentados no processamento de vegetais. PPO's não são enzimas altamente estáveis ao calor, sendo necessário curtas exposições a temperaturas entre 70°C e 90°C para inativá-las. As peroxidases oxidam substratos orgânicos na presença de peróxidos e são utilizadas para avaliar a eficiência de processos de branqueamento, devido a sua resistência térmica relativamente elevada. Encontradas em frutas e hortaliças, sua atividade está associada ao desenvolvimento de sabores desagradáveis e pigmentos amarronzados (O'DONNELL, TIWARI, BOURKE, & CULLEN, 2010).

Tabela 1 – Valores de pH, acidez titulável, sólidos solúveis totais, compostos fenólicos totais, K, Na, Ca, Glicose, Frutose e Sacarose encontrados em água de coco verde

Referências	Costa et al., (2015)	Appaiah, Sunil, Kumar, & Krishna, (2015)	Tan et al., (2014)	Kailaku, Setiawan, & Sulaeman, (2017)	Rodsamran & Sothornvit, (2018)	Chidambaram, Singaraja, Prasanna, Ganesan, & Sundararajan, (2013)	(Prado et al., 2015)
Ph	4.8 – 5.0	4.5	4.78 ± 0.13	5.60	5.19 ± 0.01	5.3 - 6.1	5.01 - 5.94
Acidez titulável¹ (g/100mL)	0.0787– 0.0820	0.04	0.089 ± 0.004	-	-	-	-
Sólidos Solúveis Totais² (°Brix)	5	3.4	5.60 ± 0.14	-	4.50 ± 0.12	4,32 - 4,55	5.00 - 5.40
Compostos fenólicos (mg GAE/L)	-	-	54.00 ± 3.135	-	57.56	-	-
K (mg/100mL)	-	249.6±9.21	220.94 ± 0.32	184.05	-	136,5	-
Na (mg/100mL)	-	31.4±1.72	7.61 ± 0.041	2.07	-	9.0-75	-
Ca (mg/100mL)	-	3.6±0.30	8.75 ± 0.045	-	-	25.6	-
Glicose (g/100mL)¹	-	-	3.543± 0.51	2.72	-	-	1.886 – 2.159
Frutose (g/100mL)¹	-	-	3.904± 0.82	2.71	-	-	1.847 – 2.379
Sacarose (g/100mL)¹	-	-	0.085± 0.01	0.64	-	-	-

Fonte: elaborado pela autora.

¹ Todos os valores destes parâmetros foram convertidos para g/100mL.

² Todos os valores deste parâmetro foram convertidos para °Brix.

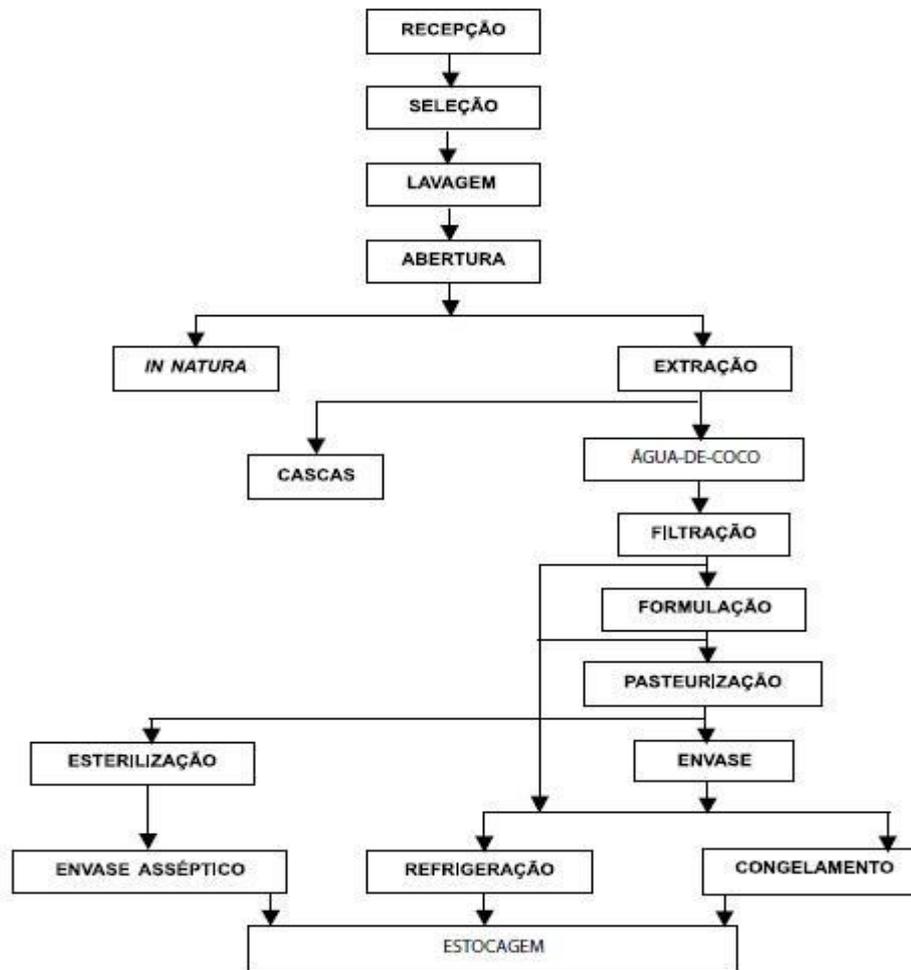
2.2.4 Processamento e Métodos de Conservação

A água de coco é atualmente comercializada tanto *in natura*, ou seja, dentro do fruto para consumo imediato, quanto na forma industrializada. A necessidade do processamento se deu para solucionar questões relacionadas à perecibilidade, disponibilidade, armazenamento e transporte do produto. A aplicação de métodos de conservação permite maior estabilidade e vida de prateleira; o consumo em áreas distantes das regiões produtoras; a redução de volume e peso e, conseqüentemente, de custos de armazenamento e transporte; praticidade e conveniência (ROSA & ABREU, 2000).

De acordo com a Instrução Normativa Nº 9, DE 30 DE JANEIRO DE 2020/MAPA, o produto “água de coco” é definido no Brasil como a bebida não diluída, não fermentada, obtida da parte líquida do fruto do coqueiro (*Cocos nucifera L.*), por meio de processo tecnológico adequado (MAPA, 2020).

A vida de prateleira da água de coco dependerá dos métodos de conservação aplicados. Estes métodos visam fundamentalmente inibir a ação microbiana e enzimática para manter sua estabilidade após a extração, preservando o máximo possível suas características sensoriais e nutricionais. Tecnologias como refrigeração, uso de aditivos, pasteurização, esterilização e envase asséptico tem sido empregadas, individualmente ou combinadas, para essas funções, conforme apresentado na Figura 2 (PRADES, DORNIER, DIOP, NSANGANAMONI, S., MALLESH, S., VANDANA, K., & SRINIVASA RAO, P., 2017).

Figura 2 - Beneficiamento do coco verde e principais métodos de conservação utilizados para água de coco



Fonte: Rosa & Abreu (2000).

Os tratamentos térmicos são os métodos de conservação convencionais mais aplicados em água de coco e são eficientes do ponto de vista microbiológico. Após a abertura do fruto, a única forma de viabilizar a estocagem do produto a temperatura ambiente é através da esterilização. Embora a inativação microbiana possa ser facilmente alcançada pelo tratamento térmico, a alta resistência ao calor de algumas enzimas faz com que estes tratamentos utilizem condições severas de temperatura, o que se torna um outro problema, pois o calor altera negativamente as propriedades do produto, tanto sensoriais (principalmente cor e sabor) quanto nutricionais devido a degradação de compostos termos sensíveis (DELGADO-POVEDANO & LUQUE DE CASTRO, 2015).

Segundo Campos et al. (1996), o binômio tempo/temperatura eficiente para reduzir a atividade da POD e PPO em água de coco a níveis aceitáveis é 90°C por 300

segundos, entretanto, a partir de 90 segundos de processamento térmico, já é possível verificar alterações no sabor e aroma. Além disso, nem sempre estes processos inibem a ação de enzimas de forma irreversível. Sucupira *et al.*, (2017) observaram que o processamento UHT não evitou o aparecimento de coloração rosada em água de coco, alteração que é comumente associada a ação enzimática.

2.3 Tecnologias Não Térmicas

Novos métodos de conservação e de processamento vêm sendo estudados como alternativas aos métodos convencionais. Tecnologias não-térmicas como filtração por membrana, radiação ultravioleta (UV), alta pressão, luz pulsada, plasma frio, ultrassom e ozônio têm recebido atenção especial nas últimas décadas, pois tem como principal vantagem promover a preservação dos alimentos reduzindo os impactos negativos geralmente associados aos tratamentos que utilizam altas temperaturas (JAMBRAK, 2019).

Em geral, podem atuar melhorando a qualidade e/ou a estabilidade dos alimentos, otimizando processos e trazendo vantagens econômicas e sustentáveis. Ultrassom, ozônio e plasma são tecnologias reconhecidas por serem efetivas no processamento de diversos alimentos, levando em conta novas tendências de mercado. Como tecnologias emergentes, há a necessidade de estudos aprofundados para o seu emprego, buscando a otimização dos resultados (CHEMAT & KHAN, 2011; KHAN ET AL., 2017).

2.3.1 Ozônio

2.3.1.1 Aspectos Gerais

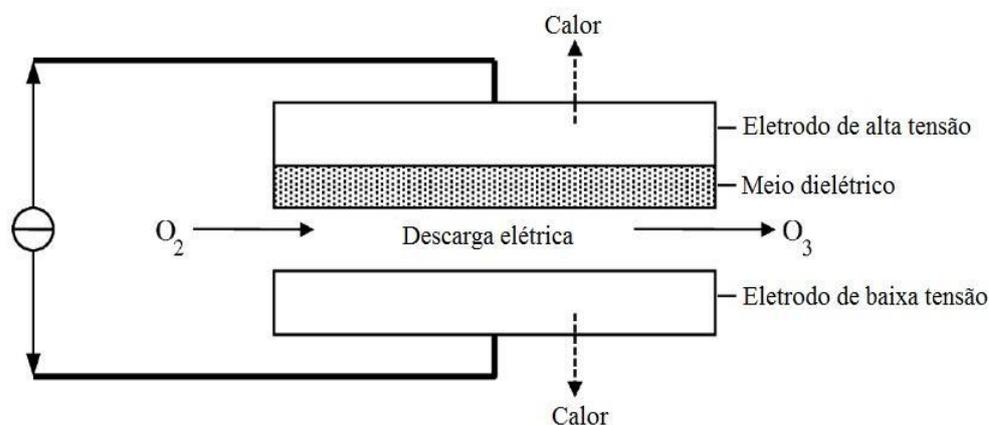
O ozônio é um gás incolor de odor pungente, instável e parcialmente solúvel em água. Destaca-se por seu elevado poder oxidante, sendo um forte agente sanitizante com ação sobre uma grande variedade de organismos, incluindo bactérias, vírus e protozoários (SILVA et al., 2011).

Foi descoberto em 1839, pelo cientista Schönbein quando observou que a eletrólise da água produzia um gás odorífero. Sua identidade e estrutura foram confirmadas em 1867. Algumas décadas depois, o potencial do ozônio de desinfetar águas poluídas foi reconhecido na Europa. Em 1891, estudos conduzidos na Alemanha confirmaram que o

ozônio é efetivo contra bactérias. No início do século XX, na França, o ozônio foi utilizado comercialmente pela primeira vez como desinfetante de água potável. Desde então, o ozônio vem sendo amplamente utilizado em estações de tratamento águas residuais, tratamento de efluentes, sanitização de superfícies e equipamentos industriais (O'DONNELL & CULLEN, 2012).

O ozônio pode ser gerado artificialmente através da exposição do oxigênio à radiação emitida por lâmpadas ultravioletas (UV) ou pelo método que utiliza descargas elétricas, também chamado de “corona”. Comercialmente, o processo mais utilizado é o corona, pois apresenta melhor rendimento e baixo consumo energético (SILVA et al., 2011). No processo corona, utiliza-se um gerador de ozônio constituído por dois eletrodos submetidos a uma elevada diferença de potencial. O gerador é alimentado por oxigênio puro ou ar ambiente filtrado que passará entre os dois eletrodos. Quando os elétrons atingem energia suficiente para dissociar a molécula de oxigênio, o átomo dissociado se liga a um oxigênio molecular formando o ozônio (Figura 3) (PRABHA et al., 2016).

Figura 3 – Geração de ozônio pelo método corona



Fonte: Adaptado de Rice et al. (1981).

2.3.1.2 Aplicação em Alimentos

O reconhecimento do ozônio como substância GRAS (geralmente reconhecida como segura) em 1997, seguida da aprovação pelo FDA como agente antimicrobiano para uso direto em alimentos em 2001, ampliou as aplicações do ozônio na indústria de alimentos (O'DONNELL & CULLEN, 2012). Estudos vem demonstrando que a ozonização pode ser uma boa alternativa aos tratamentos térmicos em alimentos, pois apresenta-se como uma

tecnologia não térmica de aplicação relativamente simples, rápida e de baixo custo, com eficiente ação oxidante sobre microrganismos e enzimas. Esta ação está associada tanto a sua forma molecular quanto aos radicais hidroxila, hidroperóxido e superóxido gerados por sua decomposição (PANDISELVAM et al., 2017; PRABHA et al., 2016).

Além do efeito sobre principais microrganismos e enzimas deteriorantes de frutas, sucos e demais produtos vegetais, vem crescendo a quantidade de estudos que buscam avaliar comportamento dos parâmetros de qualidade e dos compostos bioativos em resposta a este processamento (ASOKAPANDIAN et al., 2017).

Jaramillo-Sánchez et al. (2017) estudaram o impacto da aplicação do ozônio gasoso sobre os parâmetros físico-químicos e propriedades reológicas em suco de pêssego. Alterações não significativas, foram observadas sobre pH, °Brix, acidez titulável e variações foram observadas nos parâmetros de cor nos primeiros minutos da exposição. Houve também redução significativa da viscosidade. Em estudo posterior, Jaramillo-Sánchez et al. (2018) avaliaram o efeito do ozônio gasoso sobre a atividade das enzimas polifenoloxidase (PPO) e peroxidase (POD) também em suco de pêssego. Os resultados mostraram redução de 99.5 – 99,8% da atividade da POD e 93.9 – 97,3% da atividade da PPO após o processamento, evidenciando que o ozônio foi eficiente na inativação destas enzimas. A redução pode ser justificada pela interação das espécies altamente reativas de oxigênio com as cadeias laterais de aminoácidos ou com esqueletos das enzimas, resultando na sua fragmentação e consequente inativação. Oliveira et al. (2018) aplicou ozônio em suco de açaí e verificou níveis de inativação acima de 90% para a enzima POD, porém abaixo de 50% para PPO, além da redução dos níveis de compostos fenólicos.

Almeida et al., (2015) avaliaram o efeito do ozônio em suco prebiótico de laranja e observaram que embora produza a degradação de oligossacarídeos, a quantidade desses compostos após o processamento ainda é suficiente para que o suco seja considerado prébiótico. Além disso, não houve mudanças significativas na quantidade de compostos fenólicos nem na atividade antioxidante total, exceto no tratamento com maior dosagem. Em estudo posterior, Alves Filho et al. (2017) mostraram que a aplicação do ozônio em sucos de laranja promove baixa formação de compostos aromáticos indesejáveis.

Fundo et al. (2018) mostram que alguns parâmetros de qualidade de suco de melão *Cantaloupe* foram afetados significativamente pelo tratamento com ozônio. As alterações mais relevantes foram observadas na cor, vitamina C, carotenoides totais e atividade antioxidante. Os carotenoides totais foram os compostos bioativos mais afetados,

degradando 76% e 83% após 30 e 60 min de tratamento, respectivamente, justificando as alterações observadas nos parâmetros de cor. Além disso, a vitamina C foi reduzida em 54% e 76%. Estas alterações impactaram negativamente na atividade antioxidante total do suco, que sofreu uma perda de 45% e 52% após 30 min e 60 min de exposição ao ozônio, respectivamente. Estas perdas podem estar associadas à capacidade destes compostos antioxidantes de se doarem para neutralizar a ação oxidante dos radicais livres gerados pelo ozônio. Em contrapartida, o conteúdo total de fenólicos foi incrementado à medida que o tempo de exposição aumentou, com 43% e 69% de variação.

Considerando as diferentes respostas dos parâmetros de qualidade das bebidas vegetais ao uso ozônio, faz-se necessário estudos mais aprofundados, de acordo com a matriz alimentar desejada, para que seja possível chegar a condições que garantam a estabilidade e preservem o máximo possível as características do produto original.

2.3.2 Plasma Frio

2.3.2.1 Aspectos Gerais

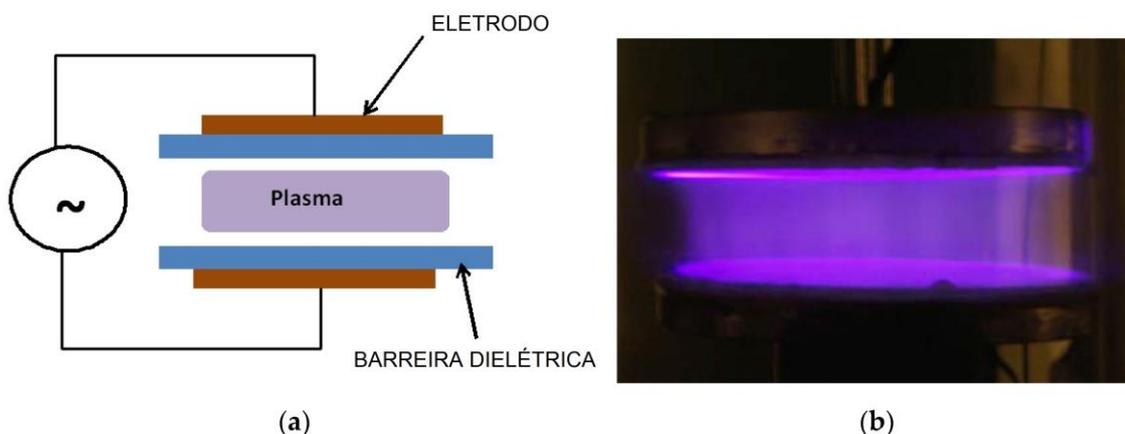
O plasma, considerado o quarto estado da matéria, consiste em um gás que é total ou parcialmente ionizado, contendo uma série de espécies reativas tais como elétrons, íons positivos, íons negativos, radicais livres e fótons. A indução desse estado pode ser realizada em qualquer gás neutro, desde que seja fornecida energia suficiente capaz de causar sua ionização (MANDAL, SINGH, & PRATAP SINGH, 2018).

De acordo com o nível de energia e temperatura das espécies constituintes, o plasma pode ser classificado em Plasma Térmico e Plasma Não Térmico. No plasma térmico, todas as espécies químicas constituintes existem em equilíbrio termodinâmico de temperatura, normalmente próximas a 20.000 K. Já no Plasma não térmico, há um desequilíbrio termodinâmico entre as espécies. O resfriamento de íons e moléculas são mais eficazes que a transferência de energia de elétrons e o gás e, conseqüentemente, todo o sistema permanecem em baixa temperatura (<60°C), sendo por isso também chamado de Plasma Frio (MISRA, SCHLÜTER, & CULLEN, 2016). O avanço da engenharia de plasma possibilitou que este processo, antes conduzido apenas sob baixas pressões, fosse também conduzido a pressões atmosféricas, o que o torna ainda mais atrativo para a indústria.

Os principais agentes reativos gerados pelo plasma incluem espécies reativas de oxigênio (oxigênio singleto, superóxido, ozônio) e espécies reativas de nitrogênio (nitrogênio atômico, óxido nítrico), além de radicais hidroxila e peróxido de hidrogênio (na presença de umidade) (SCHOLTZ, PAZLAROVA, SOUSKOVA, KHUN, & JULAK, 2015)

O plasma frio é tipicamente produzido por descargas elétricas através de diversas fontes, como por exemplo descarga corona, descarga de barreira dielétrica (DBD), descarga por micro-ondas, descarga por rádio frequência, jato de plasma, entre outros. A descarga de barreira dielétrica (DBD) destaca-se por ser uma maneira fácil e segura de produzir plasma frio, e por isso, tem sido uma das mais exploradas na área de alimentos. Na DBD, o plasma é formado através de uma descarga elétrica produzida pela diferença de potencial entre dois eletrodos separados por um ou mais materiais dielétricos isolantes (Fig 4) (SHASHI K. PANKAJ & KEENER, 2017).

Figura 4 – Esquema (a) e fotografia do processamento por plasma frio atmosférico gerado por barreira dielétrica



Fonte: Adaptado de Laroussi (2018).

2.3.2.2 Aplicação em Alimentos

Nos últimos dez anos, houve uma grande expansão nas pesquisas sobre a aplicação de plasma frio no processamento de alimentos. Estudos reportam a eficiência deste processo na inativação dos principais microrganismos patogênicos de origem alimentar (BOURKE, ZIUZINA, HAN, CULLEN, & GILMORE, 2017), tratamento de embalagens para alimentos (S.K. PANKAJ et al., 2014), degradação de toxinas (TEN BOSCH et al., 2017) e inativação de enzimas deteriorantes (MISRA, PANKAJ, SEGAT, & ISHIKAWA, 2016).

O uso recente de técnicas avançadas de identificação de compostos, como a Ressonância magnética nuclear (RMN) mostra que o plasma atmosférico não apresentou efeito significativo sobre a composição geral de sucos de laranja e acerola, embora pequenas mudanças possam ser observadas (ALVES FILHO et al., 2016, 2018a).

Os efeitos do plasma atmosférico sob altas voltagens foi investigado em suco de uvas brancas. A aplicação de plasma a 80 kV por 4 min resultou em uma redução de 7.4 log de *S. cerevisiae*. Nenhuma alteração no pH foi observada, porém, houve redução da quantidade de compostos fenólicos, flavonoides totais e atividade antioxidante total. Estas alterações foram compatíveis com as observadas no processo de pasteurização térmica (SHASHI KISHOR PANKAJ, WAN, COLONNA, & KEENER, 2017).

A aplicação de plasma frio em suco de maçã mostrou elevada inativação da enzima PPO (>80%) após 5 minutos de processamento a uma voltagem de 10.5 kV. Os parâmetros de cor foram alterados positivamente, assim como a atividade antioxidante das amostras tratadas aumentou após o processamento, devido ao aumento do conteúdo de compostos fenólicos. A estabilidade dos parâmetros avaliados se manteve durante um período de 21 dias (ILLERA et al., 2019).

A redução significativa da atividade da enzima POD pelo processamento por plasma foi reportada para tomate (S. K. PANKAJ, MISRA, & CULLEN, 2013) , pedaços de maçãs e batatas (BUßLER, EHLBECK, & SCHLÜTER, 2017), pedaços de melão (TAPPI et al., 2016b) e outras matrizes vegetais. Este efeito está estritamente relacionado à interação das espécies reativas formadas durante o processamento com o alimento. Essa interação causa perda da estrutura secundária das enzimas devido à quebra de ligações específicas ou modificações químicas das cadeias laterais de aminoácidos. Este efeito varia de acordo com a composição da matriz alimentar e com as condições do processamento. (YONGXU HAN, CHENG, & SUN, 2019).

Um recente estudo avaliou a cinética de inativação das enzimas POD e PPO em água de coco pelo plasma frio gerado por DBD, testando três voltagens diferentes (18 kV, 23 kV e 28 kV). Os autores concluíram que a inativação aumenta com a voltagem e o tempo (CHUTIA et al., 2019). Entretanto, nenhum estudo até o presente momento demonstrou algum efeito da frequência do equipamento na redução dessas enzimas.

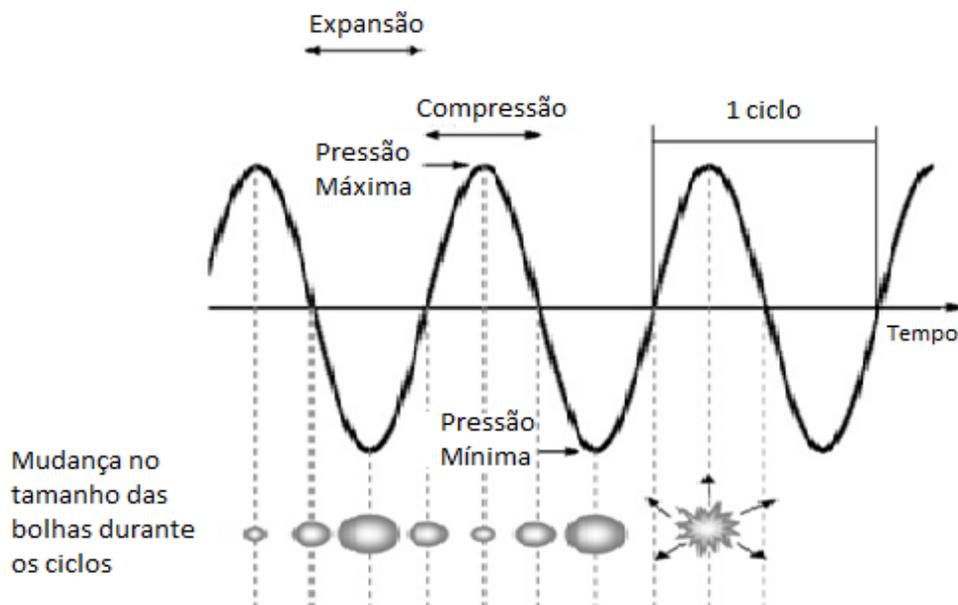
2.3.3 Ultrassom

2.3.3.1 Princípios da Tecnologia Ultrassônica

A tecnologia ultrassônica é baseada no uso de ondas sonoras com frequência acima da faixa audível pelo ouvido humano (>20 kHz, aproximadamente). Sua aplicação no processamento de alimentos varia de acordo com a frequência utilizada e é classificado em ultrassom de alta intensidade e ultrassom de baixa intensidade. O ultrassom de baixa intensidade utiliza baixa potência (< 1 W/cm²) e alta frequência (entre 5 MHz e 10 MHz) e é comumente empregado como ferramenta analítica não destrutiva para avaliação de parâmetros de qualidade de alimentos. Já o ultrassom de alta intensidade utiliza alta potência (entre 10 e 1000 W/cm²) e baixa frequência (entre 20 kHz e 100 kHz) e é o mais utilizado no processamento de alimentos (GALLO, FERRARA, & NAVIGLIO, 2018)

Essas alterações acontecem devido ao fenômeno chamado cavitação acústica, que consiste na formação, crescimento e implosão de bolhas transientes no meio exposto ao ultrassom (Figura 5).

Figura 5 – Fenômeno cavitação acústica

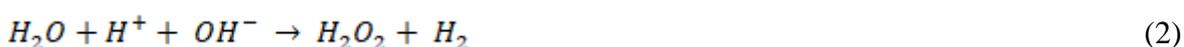


Fonte: Adaptado de Soria; Villamiel (2010).

Ao se propagarem no meio líquido, as ondas ultrassônicas geram uma pressão acústica, passando por sucessivos ciclos de compressão e decompressão. Se a frequência

aplicada for de intensidade suficiente, serão produzidos vazios dentro do líquido, conhecidos como cavidades ou bolhas de cavitação. Os gases existentes no líquido que entram nas cavidades não são totalmente expelidos na fase de compressão. Há então um aumento sucessivo do tamanho das bolhas até que seja atingido seu diâmetro crítico, ocorrendo violenta implosão. O colapso das bolhas provoca grande liberação de energia e o aumento elevado e pontual de temperatura (≈ 5000 K) e pressão (≈ 1000 atm) (CHEMAT et al., 2017; PANIWNYK, 2017)

Além do efeito térmico e mecânico, a cavitação acústica também causa alterações químicas no meio devido a formação de radicais livres oriundos da decomposição da molécula de água, também conhecida como sonólise (Eq. 1), e a recombinação desses radicais levando a formação de peróxido de hidrogênio (Eq. 2.) (DOLAS, SARAVANAN, & KAUR, 2019)



2.3.3.2 Aplicação em Alimentos

Nas últimas décadas, a tecnologia do ultrassom tem se destacado pelo seu potencial uso na preservação de sucos de fruta. Estudos mostram que o ultrassom de alta intensidade pode inativar os principais microrganismos e enzima responsáveis pelas reações de deterioração de produtos de origem vegetal (HUANG ET AL., 2017; PANIWNYK, 2017). Adicionalmente, melhorias nos atributos de qualidade e maior retenção de compostos bioativos e nutrientes têm sido reportadas.

Santos, Rodrigues e Fernandes (2018) observaram melhoramento da estabilidade e aumento do conteúdo de vitaminas em suco de acerola processado por ultrassom. A homogeneidade do suco, medida pelo valor de nuvem, foi melhorada em todas as condições de processamento aplicadas e não foi observado separação de fase, problema comum em sucos de fruta não processados. O processamento também levou ao incremento das vitaminas A, B2, B3, B5 e E, e a altos valores de retenção de vitamina C.

O efeito da pasteurização térmica e do ultrassom em produtos vegetais foram comparados por CAO et al. (2018) em suco de bayberry e por Eitzbach et al. (2019) em pasta de goldenberry (*Physalis peruviana L.*) Em ambos os estudos a sonicação promoveu

significante redução da atividade de enzimática, atingindo níveis acima de 90%. Embora a inativação enzimática atingida pelo ultrassom não tenha sido 100% como na pasteurização térmica, em termos de qualidade as amostras tratadas por ultrassom apresentaram menores perdas e maiores retenções de compostos bioativos do que no processo térmico convencional. Comportamento semelhante foi demonstrado por Saeeduddin et al., 2015 em suco de pêra.

Rojas, Trevilin, Funcia, Gut, & Augusto (2017) reportaram o efeito do ultrassom na inativação e sensibilização da enzima peroxidase (POD) em água de coco. A aplicação de ultrassom a uma densidade acústica de 286 W/L, frequência de 20 kHz, a 25 °C durante 30 minutos atingiu 27% de inativação da enzima POD. O ultrassom como pré-tratamento demonstrou resultado positivo reduzindo a resistência térmica da POD, possibilitando menores tempos e/ou temperaturas em um processamento térmico subsequente.

A combinação do ultrassom e calor também tem sido frequentemente associada a resultados positivos na inativação de enzimas e manutenção da qualidade de sucos de fruta (ANAYA-ESPARZA, VELÁZQUEZ-ESTRADA, ROIG, et al., 2017). Abid et al., 2014 reportaram a aplicação deste processo em suco de maçã. O uso do ultrassom a frequência de 20 kHz, potência de 525 W, a 60°C durante 10 minutos promoveu elevada inativação das enzimas polifenoloxidase, peroxidase e pectinametilesterase. Simultaneamente, menores perdas de compostos bioativos foram observadas nas mesmas condições. Comportamentos semelhantes foram reportados em estudos realizados por Koshani et al., (2015) em suco de laranja e Anaya-ESparza et al. (2017) em suco de graviola.

Ribeiro et al. (2017) avaliaram o efeito da termossonicação na inativação das enzimas peroxidase (POD) e polifenoloxidase (PPO) em água de coco e o compararam com o tratamento térmico convencional. No estudo é possível observar que em quase todos os tratamentos de termossonicação a redução da atividade enzimática é mais drástica do que quando somente o calor convencional é aplicado, o que também sugere a possibilidade de condições mais brandas de processamento, resultando em um produto com qualidade superior.

A grande maioria dos estudos e aplicações da tecnologia de ultrassom em alimentos são realizadas em regime de batelada, entretanto, alguns autores já tem relatado exemplos de que o aumento de escala de trabalho em modo contínuo é possível e traz vantagens operacionais. Montalbo-Lomboy et al. (2010) compararam sistemas descontínuos e contínuos no processo de sonicação de pasta de milho (com o objetivo de melhorar o processo de sacarificação) e concluíram que para uma configuração de escala industrial, o sistema contínuo mostrou-se mais eficiente que o sistema em batelada. O'Sullivan, Murray, Flynn, &

Norton (2015) reportam que para processos de emulsificação de proteínas do leite, processos contínuos utilizam energia acústica com mais eficiência do que processos em batelada, reduzindo o tempo de processamento.

Toda esta informação abre portas para a utilização deste modo de operação em processos de conservação de alimentos, mais especificamente de produtos fluidos de origem vegetal, como a água de coco.

3 OBJETIVOS

O objetivo geral do presente estudo foi avaliar o efeito de tecnologias não térmicas (Ozônio, Plasma Frio e Ultrassom Contínuo) sobre a composição, qualidade e atividade enzimática da água de coco.

Os objetivos específicos foram:

- Avaliar o efeito das tecnologias sobre o pH, cor, sólidos solúveis totais e acidez titulável;
- Avaliar, através de Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência acoplada a Espectrômetro de Massas (HPLC-MS), o perfil dos compostos fenólicos da água de coco antes e após os processamentos não térmicos;
- Avaliar, através de espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN), o efeito das tecnologias não térmicas sobre os principais compostos orgânicos encontrados na água de coco, antes e após os processamentos.

4 MATERIAL E MÉTODOS

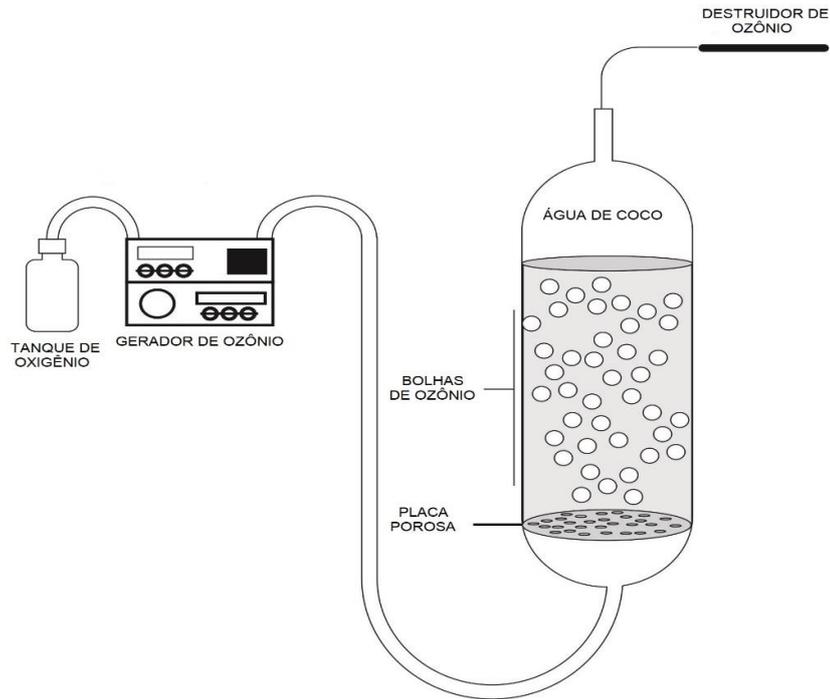
4.1 Preparo da Amostra

As amostras de água de coco foram obtidas através de extração de cocos verdes (*Cocos nucifera*, L.) no 7º mês de maturação colhidos na cidade de Paraipaba, Ceará, Brasil. A higienização dos cocos ocorreu por imersão em água clorada (200 ppm de hipoclorito) por 20 min e a extração foi realizada manualmente com o auxílio de um perfurador inox estéril. Após a extração, as amostras foram homogeneizadas e em seguida filtradas em papel filtro comum. O conteúdo filtrado foi dividido em porções de 150 mL, acondicionado em sacos plásticos e armazenados a -18 °C.

4.2 Processamento por Ozônio

Para a realização do processamento por ozônio, porções de 100 mL de água de coco foram processadas em um reator de coluna de vidro de 30 cm de altura com placa porosa de vidro sinterizado de diâmetro total de 4,5 cm e diâmetro de poro de 40-50 µm. O reator (Figura 5) foi acoplado a um gerador portátil de Ozônio Modelo O & L15 (OzoneLife, São José dos Campos, São Paulo, Brasil), o qual era alimentado por um tanque de oxigênio com fluxo fixo em 125 mL/min. A dosagem de ozônio fornecida pelo gerador foi fixada em 29,5 mg/L. A carga de ozônio aplicada na amostra e a temperatura do processamento variaram de acordo com delineamento experimental do tipo composto central (2³) com 3 repetições do ponto central (Tabela 2). Para avaliar a influência da temperatura, as amostras controle foram armazenadas sob três diferentes temperaturas (10, 20 e 30 ° C) e denominadas C10, C20 e C30, respectivamente.

Figura 6 – Esquema de funcionamento do processamento por ozônio



Fonte: elaborado pela autora.

Tabela 2 – Delineamento experimental do processamento por ozônio

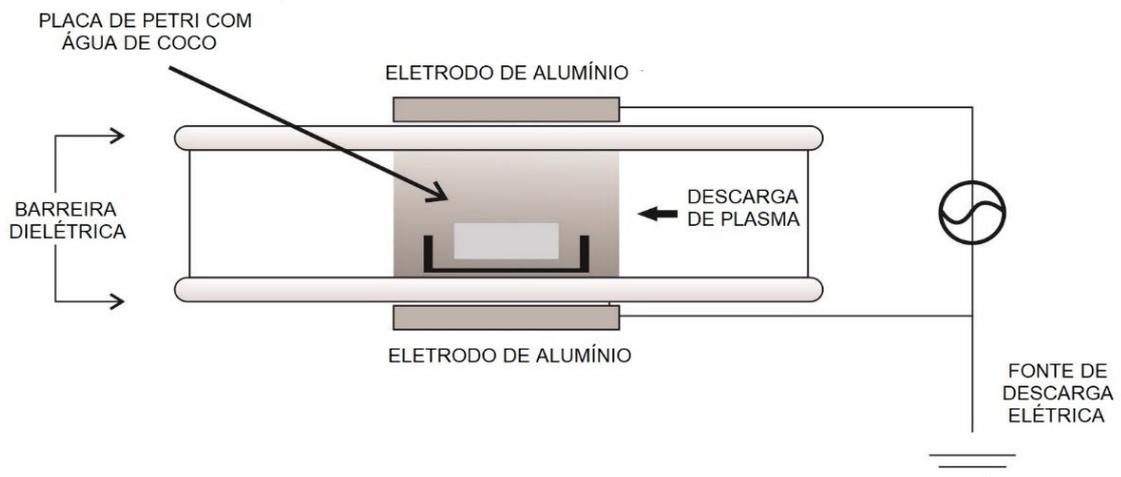
Tratamentos	Temperatura (°C)	Carga de ozônio (mg/mL de amostra)
O1	10	0.075
O2	10	0.370
O3	30	0.075
O4	30	0.370
O5	10	0.225
O6	30	0.225
O7	20	0.075
O8	20	0.370
O9	20	0.225
O10	20	0.225
O11	20	0.225

Fonte: elaborado pela autora.

4.3 Processamento por Plasma

Para o processamento do plasma foi utilizado um gerador de plasma Inergiae modelo PLS0130. O sistema consistia no gerador acoplado a uma câmara contendo dois discos de alumínio de 8 cm de diâmetro separados a uma distância de 15 mm. Duas chapas de acrílico de 5 mm de espessura foram utilizadas como barreira dielétrica. Alíquotas de 20 mL de água de coco foram acondicionadas em placa de Petri fechada e submetidas a exposição direta ao plasma (Figura 6). As frequências utilizadas foram 200, 400, 550 e 730 Hz e as voltagens 15 e 20 kV (Tabela 3). O tempo de processamento foi de 15 min para todos os tratamentos.

Figura 6 – Esquema de processamento por plasma



Fonte: elaborado pela autora.

Tabela 3 – Valores dos parâmetros frequência e voltagem utilizados para cada tratamento de plasma

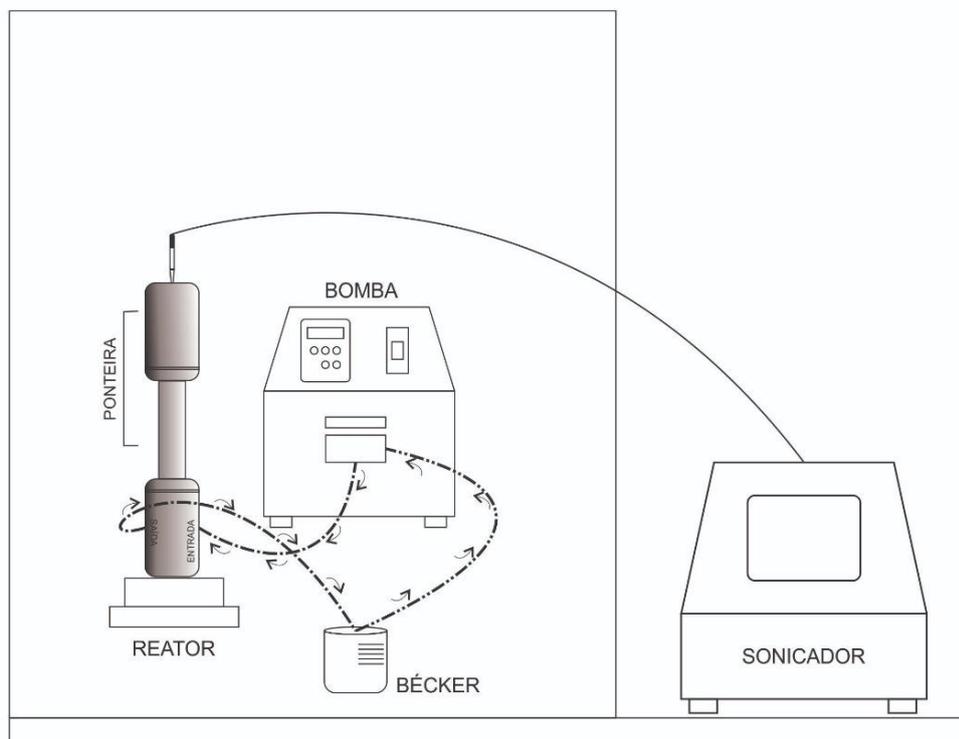
Tratamentos	Voltagem (kV)	Frequência
Controle	0	0
P1	200	15
P2	200	20
P3	400	15
P4	400	20
P5	550	15
P6	550	20
P7	730	15
P8	730	20

Fonte: elaborado pela autora.

4.4 Processamento por Ultrassom em Fluxo Contínuo

Alíquotas de 300 mL foram processadas em fluxo contínuo em um sistema composto por um Disruptor Ultrassônico (potência máxima de 500W; modelo QSONICA SONICATIONS, EUA) com macroponteira de titânio de 9mm de diâmetro acoplado a um reator de metal (Figura 7). O tempo necessário para que todo o volume de amostra percorresse o sistema foi de 102 s, que corresponde a um ciclo do sistema (passe único/PU). Em passagem única, as potências testadas foram 50, 75 e 100% da potência nominal do equipamento (250, 375 e 500 W, respectivamente) (Tabela 4).

Figura 7 – Esquema de funcionamento do processamento por Ultrassom contínuo



Fonte: elaborado pela autora.

Tabela 4 – Potências utilizadas no processamento por ultrassom contínuo em passe único

Tratamentos	Potência (%)	Número de ciclos	Tempo de residência (s)	Potência real (W)	Densidade Acústica (W/L)
Passe único 1	50	1	102	75	1500
Passe único 2	75	1	102	115	2300
Passe único 3	100	1	102	170	3400

Fonte: elaborado pela autora.

Posteriormente, um delineamento experimental do tipo composto central (2^3) com 3 repetições do ponto central foi conduzido, com variação da potência (50, 75 e 100%) e número de ciclos no sistema (2, 4 e 6) (Tabela 5).

Tabela 5 – Delineamento experimental utilizado no processamento por ultrassom com múltiplos passes, potência nominal do equipamento, potência real e densidade acústica aplicadas nas amostras de água de coco

Tratamentos	Potência (%)	Nº de Ciclos	Tempo de residência (s)	Potência real (W)	Densidade Acústica (W/L)
1	50	2	204	75	1500
2	50	6	612	75	1500
3	100	2	204	170	3400
4	100	6	612	170	3400
5	50	4	408	75	1500
6	100	4	408	170	3400
7	75	2	204	115	2300
8	75	6	612	115	2300
9	75	4	408	115	2300
10	75	4	408	115	2300
11	75	4	408	115	2300

Fonte: elaborado pela autora.

4.5 Análises

4.5.1 Espectroscopia de RMN

Para a análise de RMN, as amostras foram preparadas segundo Sucupira et al. (2017). Desta forma, uma alíquota de 165 μL foi misturada a 400 μL de D_2O (99,9%) e 35 μL de solução contendo D_2O , EDTA (14 mM) e 1% de 2,2,3,3-d₄-(3-trimetilsilil)-propionato de sódio (TMSP-d₄), e inserida em tubos de 5 mm. As análises de RMN foram realizadas em um espectrômetro Agilent de 600 MHz (14,1 T) equipado com uma sonda de detecção inversa (5 mm, H-F / 15N-31P) One Probe™. Os espectros de RMN de ¹H foram adquiridos em triplicata sob condições quantitativas, usando a sequência de pulsos PRESAT para supressão do sinal da água não deuterada (δ 4,86) (ELENILSON G. ALVES FILHO et al., 2018B; SPRAUL, SCHÜTZ, HUMPFER, et al., 2009). A temperatura foi controlada para 25 °C e o TMSP-d₄ foi usado como padrão interno (0,0 ppm).

A identificação dos constituintes foi realizada através de análises por RMN em duas dimensões, como COSY (Correlation Spectroscopy), HSQC (Heteronuclear Single

Quantum Correlation) e HMBC (Heteronuclear Multiple-Bond Coherence), bem como comparações com informações disponibilizadas em um banco de dados de acesso livre (www.hmdb.ca) (WISHART et al., 2013) e recentes publicações (RICHARDSON et al., 2019; SUCUPIRA et al., 2017).

4.5.2 Compostos Fenólicos

As análises para o estudo da variação dos compostos fenólicos foram realizadas em um sistema de UPLC (*Ultrahigh Performance Liquid Chromatography*) acoplado a um detector HRMS (*High Resolution Mass Spectrometry*). Para estas análises, foi realizado o processo de extração em fase sólida (SPE) a fim de concentrar os compostos de interesse e eliminar interferentes e contaminantes. Inicialmente, um cartucho C18 (500 mg; 6 mL) foi previamente condicionado com 5 mL de metanol grau HPLC, seguido de 5 mL de água destilada (grau Milli-Q). Posteriormente, 10 mL de amostra de água de coco foram percolados e em seguida, foi realizada a limpeza amostral retida no cartucho com 5 mL de água destilada para eliminação de açúcares e aminoácidos. Por fim, a eluição dos compostos de interesse foi realizada com 5 mL de metanol (grau HPLC), os quais foram recolhidos em um tubo de ensaio e o metanol removido por secagem em rotoevaporador a 40 °C. Em seguida, a amostra resultante foi dissolvida novamente em metanol grau HPLC e filtrada através de membranas de teflon Millipore™ (diâmetro de poro 0,22 µm).

As análises por UPLC-HRMS foram realizadas em um sistema UPLC Acquity™ (Waters Co., EUA) acoplado a um sistema quadrupolo / TOF (Waters, EUA). Utilizou-se uma coluna Waters Acquity™ UPLC BEH (150 × 2,1 mm, 1,7 µm) com a temperatura ajustada à 40 °C. As fases móveis foram água com 0,1% de ácido fórmico (A) e acetonitrila com 0,1% de ácido fórmico (B). Para essas análises, a variação da fase móvel sob fluxo de 0,4 mL.min⁻¹ ocorreu da seguinte forma: 0-15,0 min, 2-95% B; 15,0-17,0 min, 100% de B; 17-19 min, 2% de B. O volume de injeção das amostras foi de 5 µL. Os modos positivos e negativos de ionização foram aplicados a interface de ionização por eletrospray (ESI), adquiridos de 110 a 1180 Da. A temperatura da fonte foi de 120 °C, temperatura de dessolvatação de 350 °C e fluxo de gás de dessolvatação de 500 L.h⁻¹. O instrumento foi controlado pelo software MassLynx 4.1 (Waters Co., EUA). As análises foram desenvolvidas em triplicata.

4.5.3 Análises Quimiométricas

A análise quimiométrica foi a ferramenta utilizada para analisar os dados químicos obtidos nas análises de RMN e compostos fenólicos. Uma matriz numérica contendo 60 espectros de RMN de ^1H foi criada usando os dados adquiridos em triplicata de 20 amostras diferentes, sendo uma controle (não processada), 11 amostras processadas por ozônio e 8 processadas por plasma (procedimentos descritos nos itens 2.2 e 2.3 respectivamente). Para construção da matriz, os espectros foram convertidos em arquivos ASCII (*American Standard Code for Information Interchange*) e importados pelo software Origin™ 9.4. A matriz resultante foi exportada para análise quimiométrica não supervisionada por Análise de Componentes Principais (PCA - *Principal Component Analysis*) usando o programa PLS-Toolbox™ (versão 8.6.2, Eigenvector Research Incorporated, Manson, WA, EUA). A área espectral influenciada pela supressão de água não deuterada com base no perfil de saturação (δ 4,67 a 5,06) foi excluída. Antes da aplicação do algoritmo SVD (*Singular Value Decomposition*) para decompor a matriz nos gráficos de escores, *loadings* e erros, foram aplicados tratamentos para correção da linha de base, alinhamento dos sinais por COW (*Correlation Optimized Warping*) e normalização. Adicionalmente, o tratamento para centralização dos dados em torno da média foi aplicado às amostras, e as informações relevantes de acordo com o objetivo do estudo foram adquiridas usando as duas primeiras componentes principais (2 PC) com nível de confiança de 95%.

Para analisar conjunto de dados adquiridos por UPLC-HRMS no modo de ionização negativa, foram aplicados o método quimiométrico por PCA e os mesmos tratamentos utilizados nas análises quimiométricas dos dados de RMN. A região dos cromatogramas entre 2 e 8 min foi selecionada para a análise.

4.5.4 Atividade Enzimática

a) Polifenoloxidase (PPO)

A atividade da enzima PPO foi mensurada de acordo com o método descrito por Wisseman e Lee (1980) com algumas modificações. Uma alíquota de 300 μL de água de coco foi mantida em banho-maria até atingir a temperatura de 30 °C e em seguida foi adicionada a 1000 μL de solução tampão fosfato 0,1 M (pH 6,0) contendo o substrato catecol (0,1 M). A absorbância foi medida em espectrofotômetro Thermus Evolution a 425 nm a cada 1 minuto

durante 30 minutos. As análises foram realizadas em triplicata para cada amostra e a atividade enzimática foi calculada de acordo com a Equação 3, onde k é a inclinação da reta obtida através do gráfico de absorbância versus tempo, e FD é o fator de diluição da água de coco na reação ($FD = 4$). A atividade enzimática da POD foi expressa como Unidade de Atividade Enzimática por minuto (UAE/min), a qual é definida como a quantidade de enzima que causa uma mudança de 0,001 na absorbância por minuto.

$$\text{Atividade PPO} = \frac{k}{0,001} * FD \quad (3)$$

b) Peroxidase (POD)

A determinação da atividade enzimática da POD foi realizada de acordo com o método de Fehrmann (1948), com algumas adaptações. O substrato guaiacol 1% (v/v) foi adicionado diretamente à solução tampão fosfato-citrato 0,1 M (pH 5). Em um tubo de ensaio foram adicionados: 825 μ L de tampão fosfato-citrato contendo 1% de guaiacol, 75 μ L de peróxido de hidrogênio 3% e 450 μ L de amostra de água de coco. A reação aconteceu à temperatura ambiente (25 ± 2 °C) A absorbância foi medida em espectrofotômetro Thermus Evolution a 470 nm em intervalos de 15 segundos durante 5 minutos. A análise foi executada em triplicata para cada amostra e a atividade enzimática foi calculada de acordo com a equação 4, onde k é a inclinação da reta obtida através do gráfico absorbância versus tempo e FD é o fator de diluição da água de coco na reação ($FD=3$). A atividade enzimática da POD foi expressa como Unidade de Atividade Enzimática por minuto (UAE/min), a qual é definida como a quantidade de enzima que causa uma mudança de 0,001 na absorbância por minuto.

$$\text{Atividade POD} = \frac{k}{0,001} * FD \quad (4)$$

4.5.5 pH

O pH foi determinado através de leitura direta em potenciômetro Marconi, modelo PA 200, calibrado a cada utilização com soluções tampão de pH 4,0 e pH 7,0.

4.5.6 Cor

A cor foi determinada usando um colorímetro Minolta CR300 (Tóquio, Japão). O colorímetro foi calibrado usando uma placa de referência branca ($Y=94,60$, $x= 0,3155$, $y=0,3321$) e determinou os parâmetros de cor: L^* , a^* e b^* . As diferenças de cor (ΔE), croma (ΔC) e tonalidade (h°) das amostras tratadas em relação à controle foram calculadas de acordo com as equações 5, 6 e 7, respectivamente.

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (5)$$

$$\Delta C = \sqrt{(a_c^{*2} + b_c^{*2}) - (a_t^{*2} + b_t^{*2})} \quad (6)$$

$$h^\circ = \tan^{-1}(b^*/a^*) \quad (7)$$

Sendo L^* a luminosidade, a^* o parâmetro do croma vermelho-verde e b^* o parâmetro do croma amarelo-azul. Os subíndices c e p representam a amostra controle e a amostra processada, respectivamente. As análises de cor foram realizadas em quintuplicata.

4.5.7 Sólidos Solúveis Totais (SST)

As leituras do teor de sólidos solúveis totais (°Brix) foram feitas por refratometria, utilizando o refratômetro digital portátil HANNA HI 96801. O aparelho foi calibrado com água destilada e as medidas tomadas a temperatura ambiente (25°C) em triplicata.

4.5.8 Acidez Titulável (AT)

A acidez total titulável foi determinada por método titulométrico e os resultados expressos em g de ácido málico/100mL de amostra. As medidas foram realizadas em triplicata.

4.5.9 Análises Estatísticas

Os resultados das análises físico-químicas e da análise quantitativa dos espectros RMN foram avaliados pela análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey a nível de

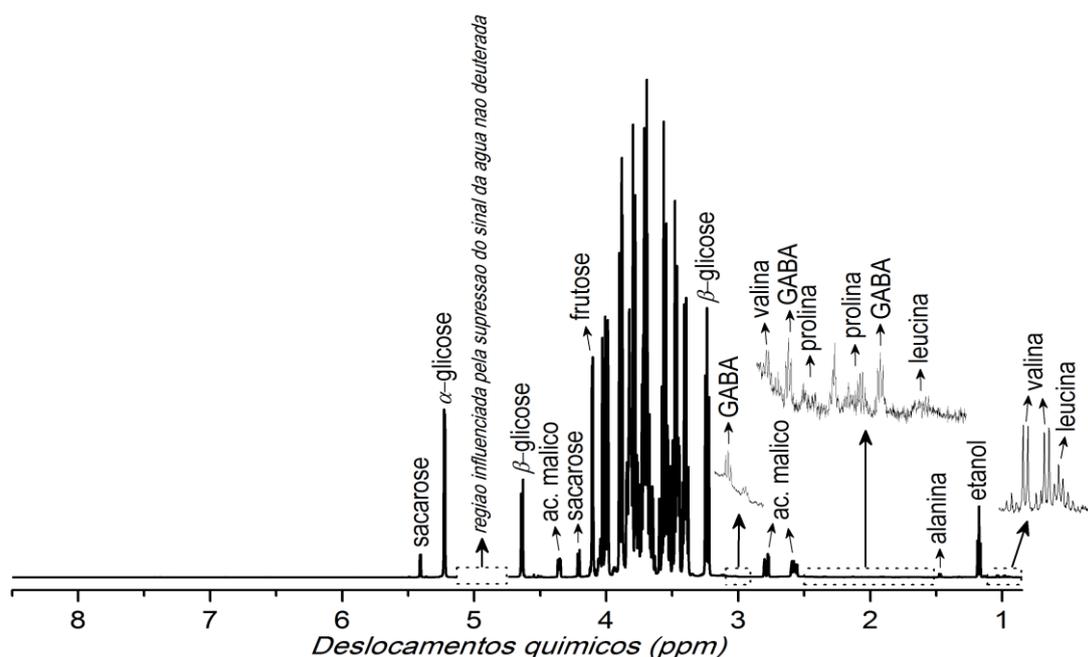
significância de 0,05 usando o software Statistica 13 (Statsoft). Os resultados foram expressos em média \pm desvio padrão.

5 RESULTADOS

5.1 Espectroscopia RMN

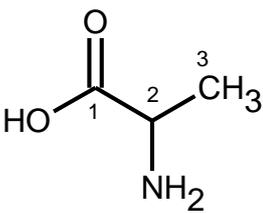
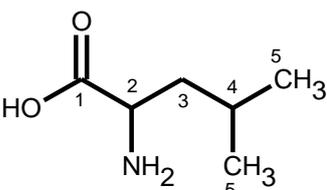
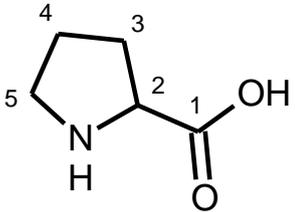
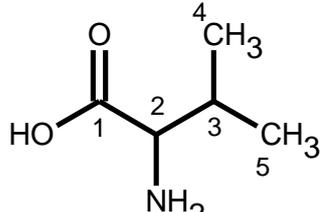
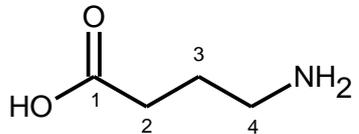
Para evitar variações de composição na água de coco relacionadas ao pré-tratamento amostral (como compostos de degradação), seguiu-se um protocolo padrão para análise por RMN de sucos de frutas e produtos correlatos para tornar a composição das amostras o mais próximo possível do real (ELENILSON G. ALVES FILHO et al., 2018A; SUCUPIRA et al., 2017). A Figura 8 ilustra os compostos orgânicos identificados nos espectros de RMN de ^1H da água de coco controle (não processada), onde o conjunto dos açúcares (sacarose, α -glicose, β -glicose e frutose) foi a principal classe de compostos, conforme esperado (SUCUPIRA et al. 2017). Outros compostos relevantes, como os aminoácidos alanina, GABA, leucina, prolina e valina, bem como o ácido málico e o etanol, também foram identificados. As estruturas moleculares, os deslocamentos químicos de ^1H e ^{13}C , multiplicidade e constantes de acoplamento estão descritos na Tabela 6.

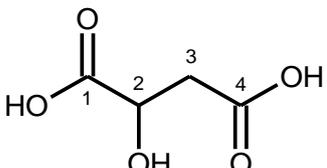
Figura 8 – Espectro representativo de ^1H RMN da água de coco controle



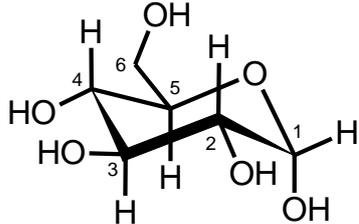
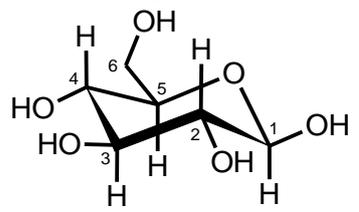
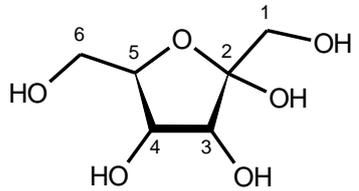
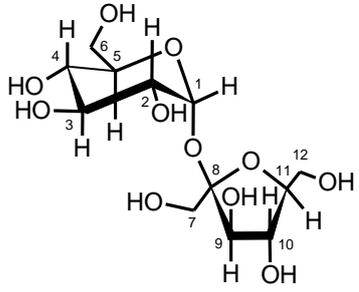
Fonte: elaborado pela autora.

Tabela 6 - Estruturas moleculares, deslocamentos químicos de ^1H e ^{13}C , multiplicidade e constantes de acoplamento dos compostos orgânicos identificados na água de coco antes e após os processamentos não térmicos

<i>Compostos/Estrutura</i>	$\delta ^1\text{H}$ (<i>multíp. *, J in Hz</i>)	$\delta ^{13}\text{C}$	<i>Ref.</i> ^1H	<i>Ref.</i> ^{13}C
AMINOÁCIDOS				
<p><i>Alanina</i></p> 	3 – 1.33 (<i>d</i> 7.2) 2 – 3.89 (<i>o</i>)	17.9 53.1	1.52 (<i>d</i> 7.30) 3.90 (<i>q</i> 7.30)	19.1 53.4
<p><i>Leucina</i></p> 	2,3,4 - não 5,6 - 0.97 (<i>d</i> 6.0)	não 42.7 23.4 24.7	3.90 (<i>no</i>) 1.73 (<i>m</i>) 0.96 (<i>dt</i>)	n 42.8 23.9 27.0
<p><i>Prolina</i></p> 	5 – 1.54 (<i>m</i>) 4 – 2.01 (<i>m</i>) 3 – 2.32 (<i>m</i>) 6 – 3.26 (<i>m</i>) 2 – 3.94 (<i>o</i>)	28.3 28.0 32.3 48.1 64.1	1.99 (<i>m</i>) 2.07 (<i>m</i>) 2.34 (<i>m</i>) 3.32 (<i>m</i>) 4.12 (<i>dd</i> 8.83; 8.42)	26.4 31.7 31.7 49.0 64.0
<p><i>Valina</i></p> 	2 - 3.62 (<i>o</i>) 3 - 2.28 (<i>o</i>) 4 - 0.98 (<i>d</i> 7.2) 5 - 1.05 (<i>d</i> 7.2)	o o 19.3 20.8	3.82 (<i>d</i> 4.4) 2.33 (<i>m</i>) 1.02 (<i>d</i> 7.1) 1.06 (<i>d</i> 7.1)	n 32.0 19.1 20.9
ÁCIDOS ORGÂNICOS				
<p><i>GABA (γ-ácido aminobutírico)</i></p> 	2 – 2.34 (<i>m</i>) 3 – 2.00 (<i>m</i>) 4 – 2.82 (<i>m</i>)	32.8 27.8 36.3	2.28 (<i>t</i> 7.60) 1.88 (<i>qui</i> 7.60) 2.99 (<i>t</i> 7.60)	37.1 26.3 42.2

<p><i>Ácido Málico</i></p> 	<p>2 – 4.35 3 – 2.62; 2.73</p>	<p>69.3 40.3</p>	<p>4.29 (<i>dd</i> 10.10, 2.90) 2.34; 2.65 (15.40, 10.10)</p>	<p>73.2 45.5</p>
--	------------------------------------	----------------------	---	----------------------

CARBOIDRATOS

<p><i>α-glicose</i></p> 	<p>1 – 5.22 (<i>d</i> 4.08) 2 – 3.47 (<i>m</i>) 3 – 3.77 (<i>m</i>) 4 – 3.56 (<i>m</i>) 5 – 3.72 (<i>m</i>) 6 – 3.85 (<i>m</i>)</p>	<p>95.6 72.3 75.6 74.0 63.9 75.5</p>	<p>5.25 (<i>d</i> 3.80) 3.89-3.36 (<i>o</i>) n n n n</p>	<p>95.4 72.2 76.0 72.8 64.2 74.5</p>
<p><i>β-glicose</i></p> 	<p>1 – 4.64 (<i>d</i> 7.80) 2 – 3.26 (<i>m</i>) 3 – 3.75 (<i>m</i>) 4 – 3.48 (<i>m</i>) 5 – 3.41 (<i>m</i>) 6 – 3.90 (<i>m</i>)</p>	<p>99.3 77.5 63.6 78.8 72.2 63.7</p>	<p>4.66 (<i>d</i> 8.10) 3.25 (<i>t</i> 8.40) n n n n</p>	<p>99.2 77.6 56.1 79.0 72.8 63.1</p>
<p><i>Frutose</i></p> 	<p>1 – o 2 – não 3 – 4.10 (<i>dd</i> 3.55) 4 – 4.10 (<i>d</i> 3.55) 5 – 3.82 (<i>o</i>) 6 – 4.02 (<i>o</i>)</p>	<p>o 107.4 77.5 78.5 83.8 66.5</p>	<p>3.58 (<i>m</i>) no 4.11 (<i>m</i>) 4.11 (<i>m</i>) 3.82 (<i>m</i>) 4.01 (<i>m</i>)</p>	<p>65.6 104.2 78.2 77.4 83.6 66.1</p>
<p><i>Sacarose</i></p> 	<p>1 - 5.43 (<i>d</i> 3.7) 2 - 3.56 (<i>o</i>) 3 - 3.76 (<i>o</i>) 4 - 3.48 (<i>o</i>) 5 - 3.85 (<i>o</i>) 6 - 3.82 (<i>o</i>) 1' - 3.82 (<i>o</i>) 2' - não 3' - 4.22 (<i>m</i>) 4' - 4.05 (<i>m</i>) 5' - 3.89 (<i>o</i>) 6' - 3.68 (<i>o</i>)</p>	<p>95.2 74.5 75.7 72.1 75.8 62.9 65.4 104.7 79.3 77.0 84.1 64.8</p>	<p>5.44 (<i>d</i> 3.8) 3.89-3.57 (<i>m</i>) 3.74 (<i>m</i>) 3.47 (<i>m</i>) 3.83 (<i>m</i>) 3.81 (<i>m</i>) 3.66 (<i>m</i>) não 4.20 (<i>t</i> 8.4) 4.08 (<i>d</i> 9.0) 3.87 (<i>m</i>) 3.81 (<i>m</i>)</p>	<p>94.7 73.5 75.3 71.8 74.9 62.8 64.0 106.3 79.0 76.6 84.0 65.0</p>

OUTROS COMPOSTOS

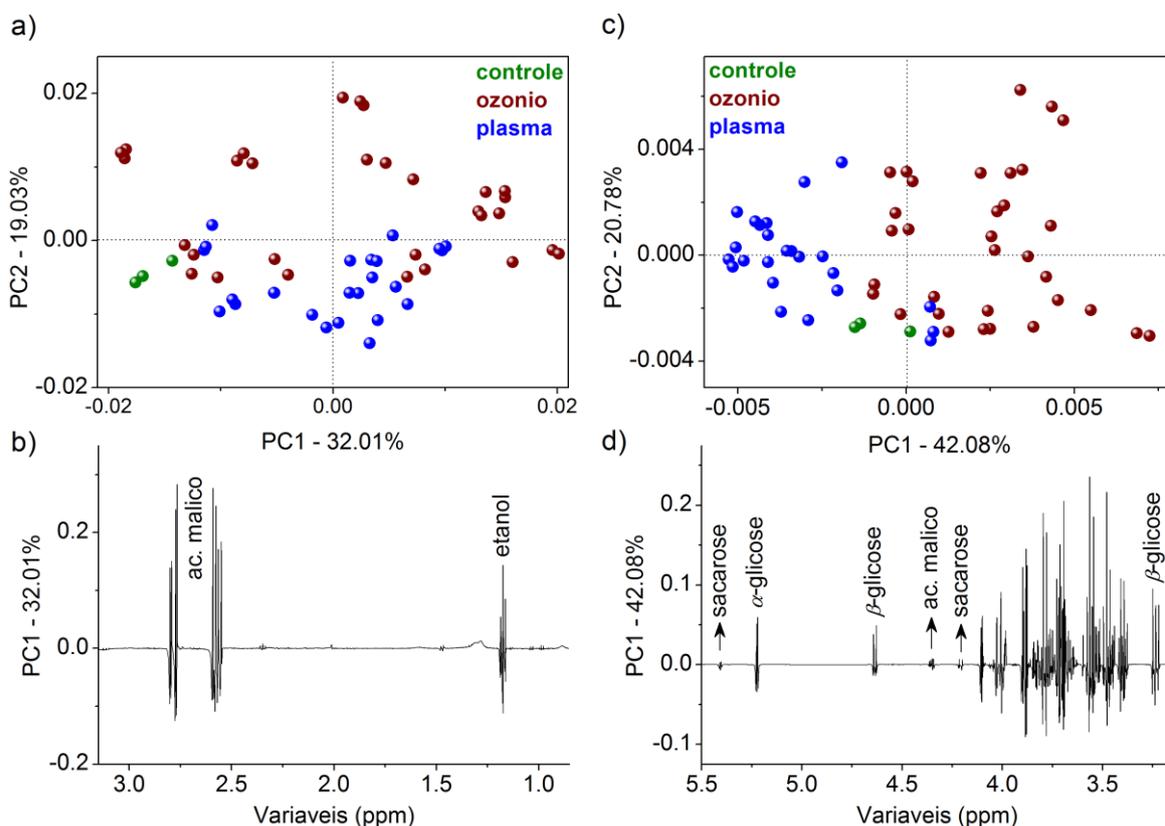
<p><i>Etanol</i></p>	<p>1 – 3.65 (o) 2 – 1.16 (t 7.20)</p>	<p>54.5 21.2</p>	<p>3.64 (q 7.08) 1.17 (t 7.08)</p>	<p>60.3 19.6</p>
----------------------	---	----------------------	--	----------------------

Fonte: elaborado pela autora.

s - simpleto; d - duplete; t - tripleto; q - quadruplete; quin – quintuplete; dd - duplo duplete; dt – duplo tripleto; o - sobreposto; n - nenhuma informação; não - não observado.

Devido ao elevado número de variáveis experimentais (diferentes processos não térmicos por ozônio e plasma), o método quimiométrico não supervisionado por PCA foi aplicado no conjunto de dados de RMN de ^1H . Esta análise estatística multivariada foi aplicada para investigar o efeito do processamento na composição das amostras. Como nenhum composto foi detectado na região de ^1H aromáticos (entre δ 5,50 e 8,50), as análises por PCA foram desenvolvidas apenas para as regiões de ^1H alifáticos (δ 0,85 e 5,15), e carbinólicos e olefinicos (δ 3,15 e 5,50), separadamente. As Figuras 9a e 9c ilustram gráficos de escores plotados em duas dimensões (PC1 \times PC2) das regiões de ^1H alifáticos e carbinólicos, respectivamente, as quais retiveram 51,04% e 62,86% do total da variância acumulada. As Figuras 9b e 9d apresentam os gráficos de *loadings* de PC1 plotados na forma de linha, uma vez que foi o principal eixo para separação de amostras com base no processamento não térmico.

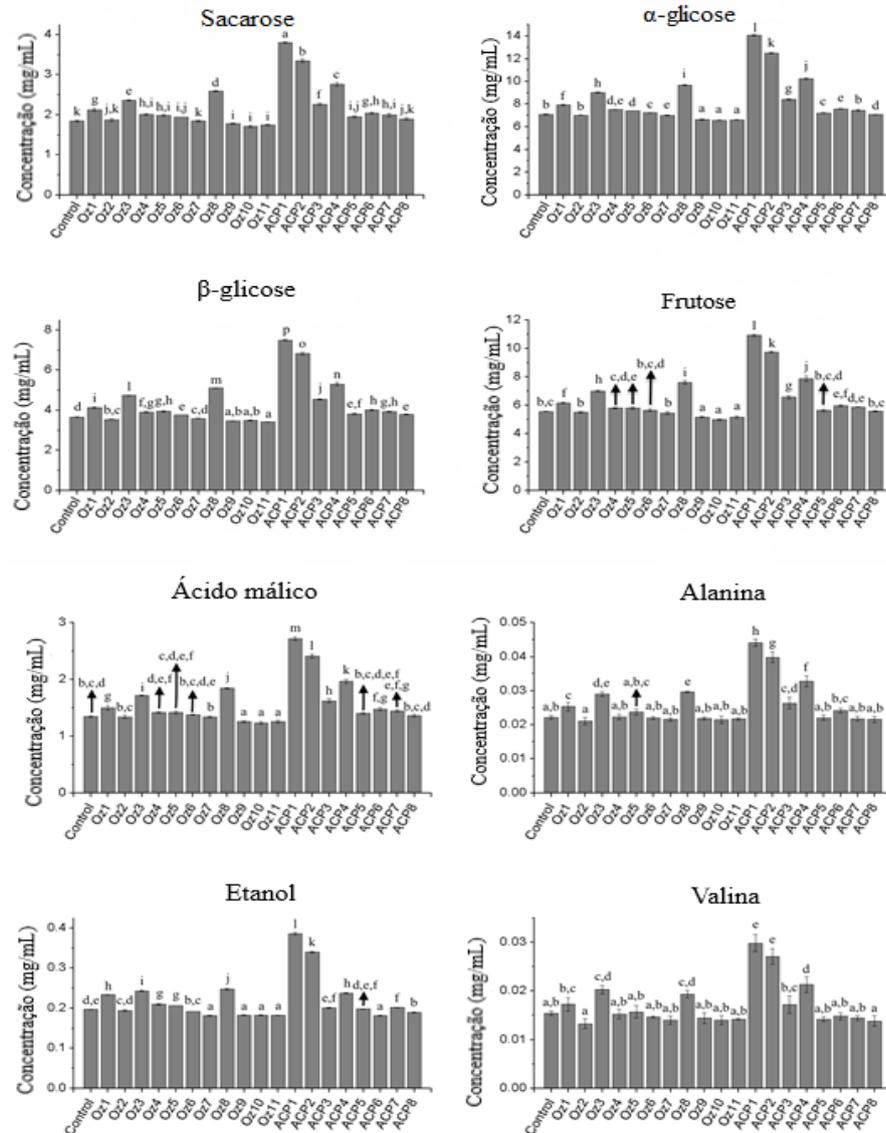
Figura 9 - Gráficos de escores (PC1 × PC2) das regiões alifática (a) e carbinólica (c) das águas de coco controle (não processada em verde) e após processamentos não térmicos por plasma (azul) e ozônio (vermelho); gráficos de *loadings* das regiões alifática (b) e carbinólica (d)



Fonte: elaborado pela autora.

Os gráficos de escores das regiões alifática (a) e carbinólica (c) ilustraram uma tendência de separação das águas de coco entre os processamentos de ozônio (vermelho) e plasma (azul). No entanto, nenhum efeito relevante de ambos os processos não térmicos foi verificado com base nos respectivos gráficos de *loadings*, independentemente dos parâmetros de tratamentos variados. Este efeito não relevante foi corroborado pela análise de variância (ANOVA) dos resultados quantitativos adquiridos por RMN q de ^1H de sacarose (referente ao deslocamento químico em δ 5,42), α -glicose (δ 5,21), β -glicose (δ 4,63), frutose (δ 4,10), ácido málico (δ 2,76), alanina (δ 1,48), etanol (δ 1,17) e valina (δ 1,01) representados na Figura 10.

Figura 10 - Concentrações de sacarose, α e β -glicose, frutose, ácido málico, alanina, etanol e valina em mg por mL de água de coco



Fonte: elaborado pela autora.

Letras diferentes significam diferenças significativas de acordo com o teste de Tukey ($p < 0,05$).

5.2 Compostos Fenólicos

A fim de avaliar o efeito de diferentes processos não térmicos em compostos fenólicos da água de coco, as amostras foram analisadas pelo sistema UPLC-HRMS. Os respectivos parâmetros espectrométricos para caracterização de compostos (valores m/z e perfis de fragmentação) estão disponíveis na Tabela 7. Os principais compostos identificados

foram procianidinas (tipo A e tipo B), ácidos cafeoilquínico e trihidroxi-octadecanóico, G₃A₂-ZR e crisoeriol.

O trímero e o dímero (tipo A) da procianidina podem ser encontrados na inflorescência de *Cocos nucifera L.* (PADUMADASA, DHARMADANA, & AM, 2016). A proantocianidina é uma classe conhecida de flavonóides que promove benefícios à saúde humana devido às propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e antiaterogênicas (CHEN, MONTANARI, & WIDMER, 1997). O ácido cafeoilquínico, mais conhecido como ácido clorogênico, é um composto derivado do ácido cafeico, que intermedia a síntese de fenólicos poliméricos em células vegetais, detectado no mesocarpo de coco jovem e está associado à defesa das plantas devido às suas propriedades antioxidantes e antimicrobianas (CHAKRABORTY & MITRA, 2008). O ácido trihidroxi-octadecanóico é um ácido graxo oxidado encontrado em alimentos de origem vegetal (GARCÍA, GARCÍA-VILLALBA, GIL, & TOMAS-BARBERAN, 2017) e o G₃A₂-ZR consiste em um fitohormônio presente naturalmente no coco (GE, YONG, TAN, YANG, & ONG, 2004; KOBAYASHI et al., 1995).

O método PCA foi aplicado para reduzir a dimensionalidade dos dados originais em dois PCs, auxiliando na interpretação dos dados multivariados. A Figura 11 ilustra os gráficos de *scores* (a) e *loadings* (b) da variação das águas de coco de acordo com o processamento não térmico.

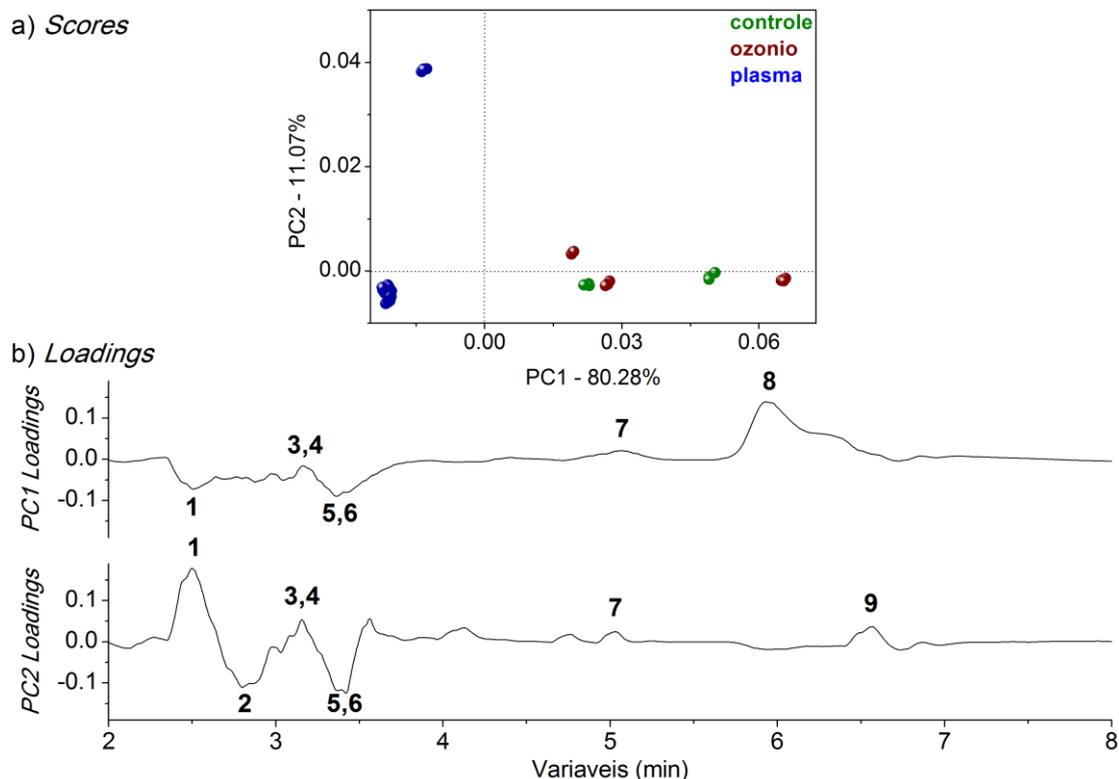
Tabela 7 – Atribuição de picos por UPLC-HRMS (M-H)⁻ de compostos fenólicos encontrados nas águas de coco controle e processadas

#	TR (min)	[M-H] ⁻ obs.	[M-H] ⁻ calc.	Prod. ion	Formula Empírica	Erro (ppm)	Compostos	Ref.
1	2.51	1100.3900	1100.3894	968.3460; 836.3017; 806.2864; 644.2461; 512.1920	C ₄₃ H ₆₆ N ₅ O ₂₈	0.5	14-O- {3-O- [β-D-galactopyranosyl-(1→2)-α-D-galactopiranosil-(1→3)-α-L-arabinofuranosil]-4-O-(α-L-arabinofuranosil)-β-D-galactopiranosil} - ribosideo trans-zeatina (G ₃ A ₂ -ZR)	(Kobayashi et al., 1995)
2	2.78	865.2029	865.1980	739.1542; 695.1709; 577.1563; 425.0865; 287.0374	C ₄₅ H ₃₇ O ₁₈	5.7	Procianidina (trímero)	(Hanhineva et al., 2008)
3	3.11	577.1381	577.1346	451.1402; 425.0877; 407.0776; 289.0782; 245.0767; 125.0301	C ₃₀ H ₂₅ O ₁₂	6.1	Procianidina (dímero)	(Hanhineva et al., 2008)
4	3.21	577.1331	577.1346	559.1237; 533.2706; 451.1507; 425.0890; 407.0778; 393.0933	C ₃₀ H ₂₆ O ₁	-2.6	Procianidina dímero (tipo B)	(Lin, Sun, Chen, Monagas, & Harnly, 2014)
5	3.36	335.0731	335.0708	179.0393; 161.0370; 135.0401	C ₂₃ H ₁₁ O ₃	6.9	Ácido cafeoilquínico	(Kang, Price, Ashton, Tapsell, & Johnson, 2016)
6	3.54	575.1185	575.1190	539.1624; 449.1082; 423.0782; 407.0876; 289.0635; 285.0718	C ₃₀ H ₂₃ O ₁₂	-0.9	Procianidina dímero (tipo A)	(MJ & S, 2015)
7	5.04	461.1069	461.1084	341.0863; 323.0767; 299.0555; 284.0288	C ₂₂ H ₂₁ O ₁₁	-3.3	Crisoeriol hexosídio I	(Kang et al., 2016)
8	5.92	343.1519	343.1545	255.1690	C ₂₀ H ₂₃ O ₅	-7.6	<i>Desconhecido</i>	-
9	6.58	329.2317	329.2328	311.2271; 293.2059; 229.0735 211.1383;	C ₁₈ H ₃₃ O ₅	-3.3	Ácido trihidroxi-octadecenóico	(Llorent-Martínez et al.,

			171.0459					2017)
--	--	--	----------	--	--	--	--	-------

Fonte: elaborado pela autora.

Figura 11 – Gráfico de espaço bidimensional para o sistema de coordenadas de *scores* PC1 × PC2 da água de coco no modo de ionização negativa (a) e carga relevante plotada na forma de linhas (b)



Fonte: elaborado pela autora.

De acordo com o gráfico de escores, a discriminação das amostras com base no processamento não térmico ocorreu principalmente de acordo com o eixo PC1. As águas de coco após o processamento do ozônio (independente da carga de ozônio) agruparam-se com amostras de controle em pontuações positivas pelas quantidades mais altas de dímero de procianidina (tipo B), crisoeriol hexosídeo I e um composto desconhecido aos 5,92 min. Isso indica que o processamento do ozônio foi eficaz na manutenção do conteúdo de compostos fenólicos da água de coco. Esse é um aspecto positivo para a aplicação deste processo nesta matriz, pois o ozônio está associado a redução destes e outros compostos bioativos em alguns sucos, por exemplo (FUNDO et al., 2018a; OLIVEIRA et al., 2018; TORRES et al., 2011).

As amostras de água de coco após o processamento do plasma (independente da intensidade) agruparam-se em escores negativos de PC1 pela redução das quantidades dos compostos procianidina (tipo B), hexosídeo I de crisoeriol, bem como pelo aumento do teor de G₃A₂-ZR, ácido clorogênico e dímero de procianidina (tipo A). A literatura mostra que a aplicação de plasma frio pode promover o aumento ou a diminuição de compostos fenólicos,

dependendo da matriz alimentar e de outras condições de processamento. Em alguns casos, a mudança no perfil pode estar relacionada à interação desses compostos com as espécies reativas formadas durante o processo, que pode promover a ruptura da ligação da molécula e/ou induzir a formação de novos compostos. O aumento de compostos fenólicos após o processamento por plasma também foi relatado para suco de romã (HERCEG et al., 2016), suco de caju (RODRÍGUEZ, GOMES, RODRIGUES, & FERNANDES, 2017b) e suco de maçã (ILLERA et al., 2019).

5.3 Parâmetros Físico Químicos: pH, sólidos solúveis totais (SST), acidez titulável (TA) e cor

Os valores dos parâmetros pH, TSS e TA da água de coco antes e depois dos processamentos ozônio, plasma e ultrassom são apresentados nas tabelas 5, 6 e 7 respectivamente. O processamento por ozônio não alterou significativamente o pH e a acidez das amostras. Variações foram observadas nos SST, porém não caracterizam alterações relevantes nas amostras. Comportamento semelhante foi relatado para os processamentos por ozônio de suco de laranja com prebióticos (ALMEIDA et al., 2015a), suco de açaí (OLIVEIRA et al., 2018) e suco de pêssego (JARAMILLO-SÁNCHEZ et al., 2017).

Analogamente, os valores de pH e SST após processamento por plasma frio atmosférico não diferiram significativamente da água de coco controle. Esse resultado foi corroborado por Mahnot, Mahanta, Keener, & Misra (2019) que mostraram que os parâmetros físico-químicos da água de coco não sofreram impacto drástico no tratamento com plasma frio. Pankaj et al. (2017) também não relataram alterações no pH do suco de uva branca processado pelo plasma frio atmosférico. Porém, Almeida et al. (2015) relataram uma diminuição nos valores de pH do suco de laranja prebiótico após o processamento por plasma.

O processamento por ultrassom também não promoveu alterações significativas no pH e SST, comportamento que também foi reportado em estudos de sonicação de suco de toranja (AADIL, ZENG, HAN, & SUN, 2013), suco de maçã (ABID et al., 2013) e suco de pêra (SAEEDUDDIN et al., 2015).

Tabela 8 – Valores de pH, SST e acidez titulável das amostras controle e processadas por ozônio

Tratamentos	Temperatura	Carga de ozônio (mg/mL)	pH	SST (°Brix)	Acidez titulável (% ác. málico)
C10	10	0	5,04 ±0,03 ^a	5,40 ±0,00 ^f	0,05 ±0,00 ^b
C20	20	0	5,06 ±0,01 ^a	5,60 ±0,00 ^d	0,05 ±0,00 ^b
C30	30	0	5,03 ±0,04 ^a	5,60 ±0,00 ^d	0,05 ±0,00 ^b
O1	10	0.075	5,01 ±0,02 ^a	5,73 ±0,06 ^{bc}	0,04 ±0,00 ^{bc}
O2	10	0.37	5,04 ±0,03 ^a	5,90 ±0,00 ^a	0,05 ±0,00 ^b
O3	30	0.075	5,01 ±0,01 ^a	5,80 ±0,00 ^{bc}	0,04 ±0,00 ^{bc}
O4	30	0.37	5,02 ±0,02 ^a	5,73 ±0,06 ^b	0,05 ±0,00 ^b
O5	10	0.225	5,02 ±0,03 ^a	5,70 ±0,00 ^c	0,05 ±0,00 ^b
O6	30	0.225	5,01 ±0,02 ^a	5,70 ±0,00 ^c	0,04 ±0,00 ^c
O7	20	0.075	5,03 ±0,03 ^a	5,50 ±0,00 ^e	0,06 ±0,00 ^a
O8	20	0.37	5,00 ±0,01 ^a	5,70 ±0,00 ^c	0,05 ±0,00 ^b
O9	20	0.225	5,14 ±0,03 ^b	5,60 ±0,00 ^d	0,05 ±0,00 ^b
O10	20	0.225	5,03 ±0,05 ^a	5,80 ±0,00 ^b	0,05 ±0,00 ^b
O11	20	0.225	5,05 ±0,03 ^a	5,53 ±0,06 ^{de}	0,04 ±0,00 ^{bc}

Fonte: elaborado pela autora.

Letras diferentes significam diferenças significativas de acordo com o teste de Tukey (p <0,05).

Tabela 9 – Valores de pH e SST de amostras de controle e processadas por plasma

Tratamentos	Frequência (Hz)	Voltagem (v)	pH	SST (°Brix)
Controle	0	0	4,99 ±0,01 ^a	6,00 ±0,00 ^a
P1	200	15	4,98 ±0,02 ^a	5,93 ±0,06 ^{ab}
P2	200	20	4,97 ±0,02 ^a	6,00 ±0,00 ^a
P3	400	15	4,98 ±0,01 ^a	5,93 ±0,06 ^a
P4	400	20	4,92 ±0,00 ^b	5,80 ±0,00 ^c
P5	550	15	4,87 ±0,01 ^c	5,93 ±0,06 ^{ab}
P6	550	20	4,97 ±0,02 ^a	5,80 ±0,00 ^c
P7	730	15	4,98 ±0,01 ^a	5,90 ±0,00 ^{ab}

P8	730	20	4,98 ±0,01 ^a	5,90 ±0,00 ^{ab}
-----------	-----	----	-------------------------	--------------------------

Fonte: elaborado pela autora.

Letras diferentes significam diferenças significativas de acordo com o teste de Tukey ($p < 0,05$).

Tabela 10 – Valores de pH e SST de amostras de controle e processadas por ultrassom em fluxo contínuo

Tratamentos	Potência (%)	Nº de Ciclos	pH	Brix
Controle	0	0	4,7 ±0,0 ^a	6,5 ±0,1 ^b
1	50	2	4,7 ±0,0 ^a	6,3 ±0,0 ^a
2	50	6	4,7 ±0,0 ^a	6,3 ±0,0 ^a
3	100	2	4,7 ±0,0 ^a	6,3 ±0,0 ^a
4	100	6	4,7 ±0,0 ^a	6,3 ±0,0 ^a
5	50	4	4,7 ±0,0 ^a	6,2 ±0,0 ^a
6	100	4	4,7 ±0,0 ^a	6,3 ±0,1 ^a
7	75	2	4,7 ±0,0 ^a	6,2 ±0,1 ^a
8	75	6	4,8 ±0,0 ^b	6,2 ±0,1 ^a
9	75	4	4,7 ±0,0 ^a	6,3 ±0,1 ^a
10	75	4	4,7 ±0,0 ^a	6,3 ±0,1 ^a
11	75	4	4,7 ±0,0 ^a	6,3 ±0,1 ^a
Passe Único 1	50	1	4,6±0,0 ^c	6,2±0,1 ^a
Passe Único 2	75	1	4,8±0,0 ^b	6,2±0,1 ^a
Passe Único 3	100	1	4,7±0,0 ^a	6,3±0,0 ^a

Fonte: elaborado pela autora.

Letras diferentes significam diferenças significativas de acordo com o teste de Tukey ($p < 0,05$).

Os parâmetros de cor L^* , a^* , b^* , c^* e h° e foram medidos, e a diferença total de cor (ΔE) foi calculada para avaliar o efeito do processamento não térmico uma vez que os valores de ΔE permitem a avaliação global das diferenças entre as amostras processadas e as não processadas (Tabelas 8, 9 e 10).

Pequenas diferenças estatísticas foram detectadas nos parâmetros de cores individuais em todos os processamentos não térmicos. De acordo com Choi, Kim, & Lee (2002), as diferenças nos parâmetros de cor são visualmente perceptíveis quando $\Delta E > 2$.

Em geral, embora exista uma ligeira diferença de cor relacionada à água de coco

não processada, os processamentos por ozônio, plasma e ultrassom apresentaram valores de ΔE abaixo de 2, o que é indicativo de que não houve alteração visual perceptível, ou seja, não houve perda na qualidade visual das amostras processadas. Estes valores são inferiores aos relatados para outros processos aplicados em água de coco, como por exemplo, processamento térmico associado a pressão (CHOURIO, SALAIS-FIERRO, MEHMOOD, MARTINEZ-MONTEAGUDO, & SALDAÑA, 2018) e dióxido de carbono associado a alta pressão (CAPPELLETTI et al., 2015).

Tabela 11 – Influência do processamento por ozônio nos valores dos parâmetros de cor L*, a* e b*, ângulo hue e diferença de cor (ΔE) em relação à água de coco in natura

Tratamentos	Temperatura (°C)	Carga de ozônio (mg/mL)	L*	a*	b*	h°	ΔE
C10	10	0	86,63 \pm 0,29 ^{abc}	1,75 \pm 0,01 ^{ab}	-4,42 \pm 0,02 ^f	291,67 \pm 0,14 ^{ab}	-
C20	20	0	86,76 \pm 0,16 ^{ab}	1,76 \pm 0,02 ^a	-4,37 \pm 0,03 ^f	291,94 \pm 0,28 ^{abcde}	-
C30	30	0	87,06 \pm 0,02 ^a	1,44 \pm 0,02 ^e	-3,84 \pm 0,01 ^b	290,71 \pm 0,34 ^f	-
O1	10	0.075	87,17 \pm 0,66 ^a	1,43 \pm 0,05 ^e	-3,66 \pm 0,08 ^a	291,39 \pm 0,41 ^{cde}	1,19 \pm 0,16 ^a
O2	10	0.37	86,60 \pm 0,27 ^{abcd}	1,43 \pm 0,02 ^e	-3,72 \pm 0,01 ^a	291,05 \pm 0,22 ^{ef}	0,88 \pm 0,10 ^{bc}
O3	30	0.075	86,63 \pm 0,04 ^{ab}	1,73 \pm 0,01 ^{abc}	-4,16 \pm 0,01 ^{cd}	292,63 \pm 0,12 ^a	0,61 \pm 0,01 ^{de}
O4	30	0.37	85,96 \pm 0,06 ^{cd}	1,69 \pm 0,01 ^{cd}	-4,17 \pm 0,03 ^{cde}	292,02 \pm 0,16 ^{abcd}	1,17 \pm 0,05 ^a
O5	10	0.225	86,32 \pm 0,26 ^b	1,70 \pm 0,01 ^{bcd}	-4,21 \pm 0,04 ^{cde}	291,96 \pm 0,32 ^{abcd}	0,39 \pm 0,09 ^e
O6	30	0.225	86,11 \pm 0,15 ^b	1,70 \pm 0,02 ^{abcd}	-4,22 \pm 0,02 ^{cde}	292,33 \pm 0,48 ^{ab}	1,06 \pm 0,13 ^{ab}
O7	20	0.075	86,14 \pm 0,17 ^b	1,68 \pm 0,01 ^{cd}	-4,13 \pm 0,02 ^c	292,15 \pm 0,08 ^{abc}	0,67 \pm 0,04 ^{cd}
O8	20	0.37	86,14 \pm 0,18 ^b	1,71 \pm 0,02 ^{abcd}	-4,22 \pm 0,03 ^{cde}	292,05 \pm 0,18 ^{abcd}	0,64 \pm 0,03 ^d
O9	20	0.225	85,96 \pm 0,14 ^{cd}	1,71 \pm 0,02 ^{abcd}	-4,22 \pm 0,01 ^{de}	292,06 \pm 0,19 ^{abcd}	0,81 \pm 0,02 ^{cd}
O10	20	0.225	85,89 \pm 0,15 ^d	1,68 \pm 0,02 ^{cd}	-4,25 \pm 0,01 ^e	291,57 \pm 0,24 ^{bcde}	0,77 \pm 0,06 ^{cd}
O11	20	0.225	85,98 \pm 0,10 ^{cd}	1,66 \pm 0,01 ^d	-4,25 \pm 0,04 ^e	291,24 \pm 0,14 ^{def}	0,63 \pm 0,13 ^d

Fonte: elaborado pela autora.

Letras diferentes significam diferenças significativas de acordo com o teste de Tukey (p < 0,05).

Tabela 12 – Influência do processamento por plasma nos valores dos parâmetros de cor L*, a* e b* e diferença de cor (ΔE) em relação à água de coco in natura

Tratamentos	Frequência (Hz)	Voltagem (v)	L*	a*	b*	h°	ΔE
Controle	0	0	87,17 \pm 0,08 ^d	1,55 \pm 0,02 ^c	-3,84 \pm 0,05 ^b	292,00 \pm 0,49 ^c	-
P1	200	15	87,36 \pm 0,03 ^{bcd}	1,49 \pm 0,02 ^{bc}	-3,87 \pm 0,02 ^b	291,04 \pm 0,33 ^{bc}	0,20 \pm 0,08 ^{bcd}
P2	200	20	87,21 \pm 0,07 ^{bc}	1,52 \pm 0,04 ^{bc}	-3,90 \pm 0,02 ^b	291,30 \pm 0,54 ^{bc}	0,09 \pm 0,03 ^{bd}
P3	400	15	87,52 \pm 0,09 ^d	1,54 \pm 0,01 ^c	-3,87 \pm 0,03 ^b	291,79 \pm 0,22 ^c	0,35 \pm 0,03 ^{ac}
P4	400	20	87,38 \pm 0,11 ^{bcd}	1,75 \pm 0,01 ^a	-4,22 \pm 0,00 ^a	292,68 \pm 0,15 ^a	0,49 \pm 0,09 ^a
P5	550	15	87,41 \pm 0,08 ^{bd}	1,51 \pm 0,03 ^{bc}	-3,86 \pm 0,03 ^b	291,38 \pm 0,21 ^{bc}	0,24 \pm 0,12 ^{cd}
P6	550	20	87,34 \pm 0,08 ^{bcd}	1,52 \pm 0,01 ^{bc}	-3,86 \pm 0,04 ^b	291,45 \pm 0,20 ^{bc}	0,17 \pm 0,10 ^{bcd}
P7	730	15	87,43 \pm 0,04 ^d	1,47 \pm 0,02 ^b	-3,89 \pm 0,01 ^b	290,72 \pm 0,15 ^b	0,28 \pm 0,05 ^{cd}
P8	730	20	86,91 \pm 0,05 ^a	1,50 \pm 0,02 ^{bc}	-3,85 \pm 0,03 ^b	291,52 \pm 0,13 ^{bc}	0,27 \pm 0,06 ^{cd}

Fonte: elaborado pela autora.

Letras diferentes significam diferenças significativas de acordo com o teste de Tukey (p <0,05).

Tabela 13 - Influência do processamento por ultrassom contínuo nos valores dos parâmetros de cor L*, a* e b*, ângulo hue e diferença de cor (ΔE) em relação à água de coco in natura

Tratamentos	Potência (%)	Nº de Ciclos	L*	a*	b*	h°	ΔE
Controle	0	0	74,63± 0,05 ^f	0,46 ±0,01 ^a	-2,46 ± 0,00 ^f	280,62 ± 0,27 ^a	-
1	50	2	75,44± 0,04 ^{bc}	0,35 ±0,01 ^{ef}	-2,26 ±0,01 ^a	278,83± 0,23 ^{cde}	0,844± 0,0279 ^{bc}
2	50	6	75,57± 0,09 ^{ab}	0,36 ± 0,01 ^{def}	-2,31 ± 0,01 ^b	278,86± 0,32 ^{cde}	0,966± 0,0649 ^{ab}
3	100	2	75,35± 0,08 ^{cde}	0,41 ± 0,02 ^{bc}	-2,36 ± 0,01 ^d	279,86± 0,59 ^{abc}	0,732± 0,0275 ^{cdef}
4	100	6	75,24± 0,13 ^e	0,43 ± 0,02 ^{ab}	-2,37 ± 0,01 ^d	280,38± 0,71 ^a	0,62± 0,0986 ^f
5	50	4	75,62± 0,06 ^a	0,32 ± 0,01 ^f	-2,32 ± 0,01 ^{bc}	277,83± 0,32 ^e	1,02± 0,0590 ^a
6	100	4	75,42± 0,06 ^{bcd}	0,41 ± 0,01 ^{bc}	-2,40 ± 0,01 ^e	279,59± 0,47 ^{abc}	0,80± 0,0683 ^{cd}
7	75	2	75,70± 0,10 ^a	0,34 ± 0,02 ^{ef}	-2,38± 0,01 ^{de}	278,05± 0,41 ^{de}	1,08± 0,1218 ^a
8	75	6	75,29± 0,12 ^{cde}	0,43 ± 0,03 ^{abc}	-2,33± 0,01 ^c	279,48± 0,81 ^{abc}	0,67± 0,0782 ^{def}
9	75	4	75,25± 0,09 ^{de}	0,43 ± 0,01 ^{bcd}	-2,37± 0,01 ^d	279,09± 0,45 ^{bcd}	0,64± 0,0761 ^{ef}
10	75	4	74,86± 0,07 ^e	0,43± 0,02 ^{abc}	-2,40± 0,00 ^e	280,03± 0,39 ^{ab}	0,24± 0,0507 ^f
11	75	4	75,20± 0,02 ^e	0,39± 0,02 ^{abc}	-2,39± 0,01 ^{de}	280,07± 0,52 ^{ab}	0,58± 0,0551 ^f
Passe Único 1	50	1	75,42± 0,08 ^{bcd}	0,43± 0,02 ^{abc}	-2,47± 0,02 ^f	279,64± 0,62 ^{abc}	0,80± 0,0710 ^{cde}
Passe Único 2	75	1	75,72± 0,04 ^a	0,43± 0,03 ^{cd}	-2,46± 0,01 ^f	279,03± 0,58 ^{bcd}	1,09± 0,0625 ^a
Passe Único 3	100	1	75,59± 0,04 ^{ab}	0,43± 0,01 ^{de}	-2,47± 0,00 ^f	278,74± 0,53 ^{cde}	0,97± 0,0796 ^{ab}

Fonte: elaborado pela autora.

Letras diferentes significam diferenças significativas de acordo com o teste de Tukey ($p < 0,05$).

5.4 Atividade Enzimática

Não foram detectadas quantidades mensuráveis de enzima PPO no controle e nas amostras tratadas por ozônio, plasma e ultrassom. Para avaliar a influência da temperatura, a água de coco não processada (amostra controle) foi incubada em três temperaturas diferentes (10, 20 e 30 ° C). As amostras foram denominadas como C10, C20 e C30, respectivamente. As atividades iniciais da enzima POD nas águas de coco de controle C10, C20 e C30 foram 621 ± 36 , 726 ± 9 e 615 ± 6 UEA / min, respectivamente.

O ozônio promoveu a redução da enzima POD a níveis não detectáveis em todos os tratamentos, o que revela que a carga mínima de ozônio aplicada (0,075 mg / mL) foi suficiente para atingir a inativação completa da enzima. Como a atividade enzimática após todas as condições de planejamento experimental foram as mesmas, o efeito das variáveis independentes nesta resposta não foi significativo, portanto, a metodologia da superfície de resposta não pôde ser aplicada.

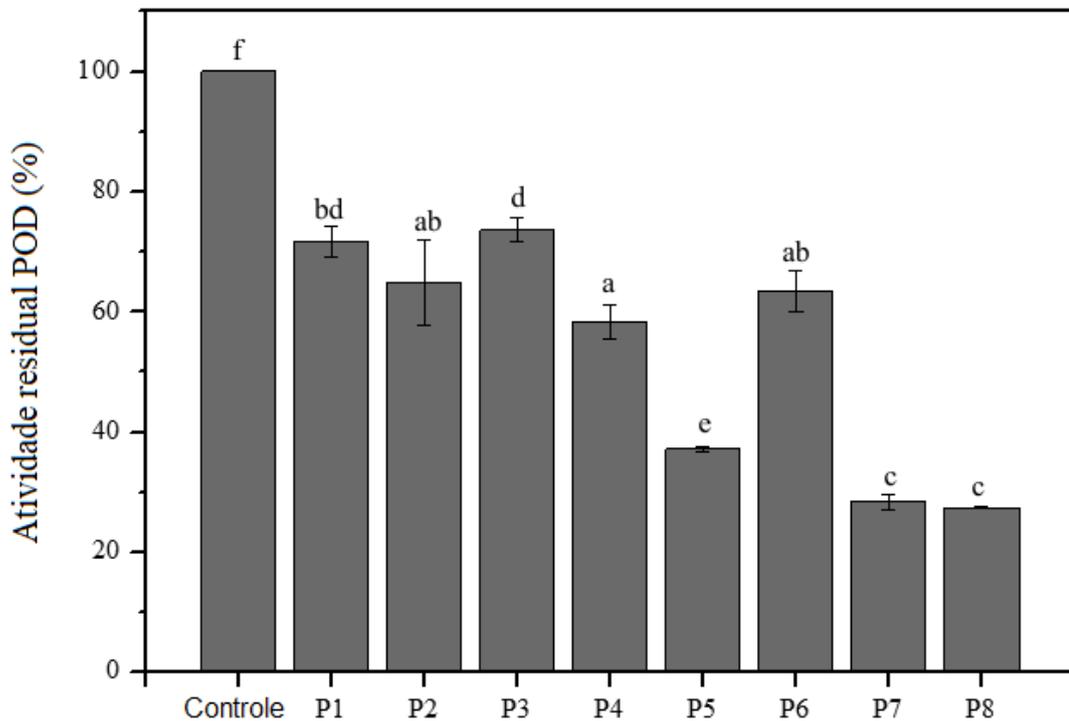
Estudos relataram inativação relevante de POD em sucos de pêssego (JARAMILLO SÁNCHEZ et al., 2018) e açaí (OLIVEIRA et al., 2018). Os autores observaram uma forte correlação entre a redução da enzima e o aumento da concentração de ozônio. A redução da atividade enzimática pode ser atribuída a alterações oxidativas na estrutura e conformação da enzima promovidas pela reação direta com ozônio ou com espécies reativas derivadas de sua decomposição, que causa danos variados e complexos que envolvem interação com cadeias laterais de aminoácidos ou com a estrutura das proteínas, causando fragmentação da molécula.

O processamento por plasma frio atmosférico promoveu redução da atividade enzimática da POD em todos os tratamentos (Figura 12). De maneira geral, observou-se que as menores atividades residuais (cerca de 28%) foram alcançadas pelos tratamentos P7 e P8, nos quais foi utilizada a maior frequência (730 Hz). Esse fato indica que a redução da atividade enzimática aumentou com a frequência.

A atividade residual também parece diminuir com a voltagem, exceto no tratamento P6, que apresentou maior atividade residual (cerca de 68%). Já na frequência mais alta, a voltagem não teve influência nos níveis de inativação. O estudo relatado por Chutia, Kalita, Mahanta, Ojah, & Choudhury (2019) demonstra a aplicação de plasma frio em água de coco sob diferentes voltagens e conclui que a inativação da peroxidase aumenta com a

voltagem e o tempo de processamento. A mesma tendência foi observada por Pankaj et al., (2013) com a aplicação de plasma frio atmosférico em tomates.

Figura 12 – Atividade residual da enzima POD após processamento por plasma frio atmosférico



Fonte: elaborado pela autora.

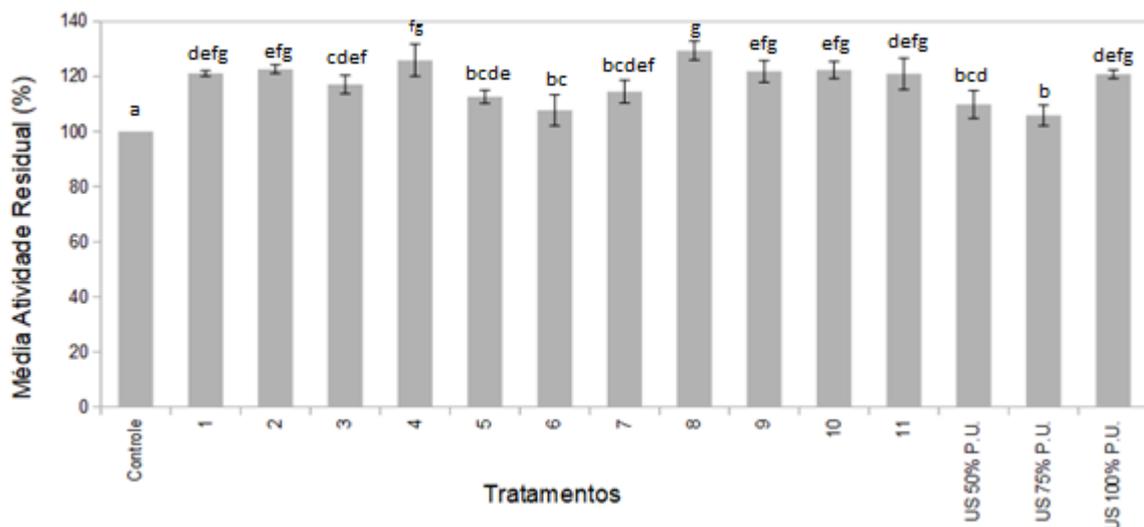
Embora voltagem e tempo sejam parâmetros importantes que influenciam a taxa e o formato da curva de inativação, este estudo mostrou que a frequência é um parâmetro que tem um efeito significativo na redução da atividade da POD.

O mecanismo de inativação enzimática por plasma é comumente associado a formação de espécies quimicamente reativas (óxidos de nitrogênio, ozônio, radicais hidroxila, superóxido e hidróperóxido, entre outros) durante o processamento, as quais reagem com as enzimas causando mudanças em sua estrutura e consequente perda de atividade (MISRA, PANKAJ, et al., 2016). Yong-xu Han, Cheng, & Sun (2019) verificaram que peroxidases expostas ao plasma frio sofrem redução das alfa-hélices e aumento das folhas-beta, indicando modificação da estrutura secundária; mudança no perfil da cadeia lateral de aminoácidos e degradação do grupo heme do sítio ativo, resultando em inativação. Esses danos foram

atribuídos às interações com espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, identificadas através de Espectroscopia de Emissão Ótica.

Com relação ao processamento por ultrassom contínuo, pode-se observar que nenhum dos tratamentos promoveu a redução da atividade da enzima, mas, um ligeiro aumento (Figura 13). A aplicação de ultrassom pode levar ao rompimento de células vegetais presentes em matrizes como frutas e seus derivados, causando a liberação do conteúdo intracelular no meio (FIROUZ, FARAHMANDI E HOSSEINPOUR, 2019). Considerando que as enzimas se situam nos compartimentos intracelulares, o contato destas com o substrato é favorecido, podendo justificar um aumento em sua atividade. Entretanto, esta hipótese não foi considerada neste estudo, pois a água de coco foi filtrada. Portanto, o comportamento observado pode estar relacionado ao fato de que a energia ultrassônica adicionada ao sistema pode não ter sido suficiente para causar danos que levam à inativação, mas pode ter promovido mudanças conformacionais no sítio ativo, melhorando a interação enzima-substrato (CRUZ, VIEIRA, & SILVA, 2006; HUANG et al., 2017), levando a um aumento da atividade da enzima.

Figura 13 – Atividade residual da enzima POD após o processamento por ultrassom contínuo



Fonte: elaborado pela autora.

Rojas, Trevilin, & Augusto (2016) reportaram aumento na atividade da POD da água de coco, quando são utilizadas altas frequências (40kHz) e baixas potências ultrassônicas. Já quando baixas frequências (20kHz) e altas potências (500 W) foram

aplicadas, após 30 minutos de processamento, foi observado uma redução máxima de 27% da atividade. Isto significa dizer que seriam necessários tempos de processamento maiores para atingir níveis de inativação aceitáveis, indicando alta resistência da POD ao tratamento (Rojas et al., 2017), o que pode justificar os resultados obtidos no presente estudo.

6 CONCLUSÃO

Nenhuma das tecnologias não térmicas promove prejuízos às características físico-químicas e à qualidade visual da água de coco. Ozônio e plasma não apresentam efeito relevante sobre os principais compostos orgânicos identificados. O processamento por ultrassom contínuo não foi eficiente para promover a redução da POD em nenhuma das condições testadas neste estudo, sendo, portanto, necessários mais estudos para entender melhor o comportamento da enzima frente a esta tecnologia. O processamento por plasma frio atmosférico altera o perfil de compostos fenólicos da água de coco e apresenta melhores resultados quanto à inativação de POD quando altas frequências são aplicadas. O ozônio destacou-se como o tratamento mais adequado para inativação de POD, considerando que cargas a partir de 0,075 mg/mL de ozônio são suficientes para reduzir a atividade da enzima a níveis indetectáveis sem alterar o perfil de compostos fenólicos.

REFERÊNCIAS

- AADIL, R. M.; ZENG, X. A.; HAN, Z.; SUN, D. W. Effects of ultrasound treatments on quality of grapefruit juice. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 141, n. 3, 3201–3206, 2013.
- ABID, M.; JABBAR, S.; HU, B.; HASHIM, M. M.; WU, T.; LEI, S.; ZENG, X. Thermosonication as a potential quality enhancement technique of apple juice. **Ultrasonics Sonochemistry**, [s. l.], v. 21, n. 3, 984–990, 2014.
- ABID, M.; JABBAR, S.; WU, T.; HASHIM, M. M.; HU, B.; LEI, S.; ZENG, X. Effect of ultrasound on different quality parameters of apple juice. **Ultrasonics Sonochemistry**, [s. l.], v. 20, n. 5, 1182–1187, 2013.
- ALMEIDA, F. D. L.; CAVALCANTE, R. S.; CULLEN, P. J.; FRIAS, J. M.; BOURKE, P.; FERNANDES, F. A. N.; RODRIGUES, S. Effects of atmospheric cold plasma and ozone on prebiotic orange juice. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, [s. l.], v. 32, 127–135, 2015a.
- ALMEIDA, F. D. L.; CAVALCANTE, R. S.; CULLEN, P. J.; FRIAS, J. M.; BOURKE, P.; FERNANDES, F. A. N.; RODRIGUES, S. Effects of atmospheric cold plasma and ozone on prebiotic orange juice. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, [s. l.], v. 32, 127–135, 2015b.
- ALVES FILHO, E. G.; RODRIGUES, T. H. S.; FERNANDES, F. A. N.; DE BRITO, E. S.; CULLEN, P. J.; FRIAS, J. M.; RODRIGUES, S. An untargeted chemometric evaluation of plasma and ozone processing effect on volatile compounds in orange juice. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, [s. l.], 2017.
- ALVES FILHO, E. G.; ALMEIDA, F. D. L.; CAVALCANTE, R. S.; DE BRITO, E. S.; CULLEN, P. J.; FRIAS, J. M.; RODRIGUES, S. ¹H NMR spectroscopy and chemometrics evaluation of non-thermal processing of orange juice. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 204, 102–107, 2017.
- ALVES FILHO, E. G.; SILVA, L. M. A.; DE BRITO, E. S.; WURLITZER, N. J.; FERNANDES, F. A. N.; RABELO, M. C.; RODRIGUES, S. Evaluation of thermal and non-thermal processing effect on non-prebiotic and prebiotic acerola juices using ¹H qNMR and GC–MS coupled to chemometrics. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 265, 23–31, 2018a.
- ALVES FILHO, E. G.; SILVA, L. M. A.; DE BRITO, E. S.; WURLITZER, N. J.; FERNANDES, F. A. N.; RABELO, M. C.; RODRIGUES, S. Evaluation of thermal and non-thermal processing effect on non-prebiotic and prebiotic acerola juices using ¹H qNMR and GC–MS coupled to chemometrics. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 265, 23–31, 2018b.
- ANAYA-ESPARZA, L. M.; VELÁZQUEZ-ESTRADA, R. M.; ROIG, A. X.; GARCÍA-GALINDO, H. S.; SAYAGO-AYERDI, S. G.; MONTALVO-GONZÁLEZ, E. Thermosonication: An alternative processing for fruit and vegetable juices. **Trends in Food Science & Technology**, [s. l.], v. 61, 2017.
- ANAYA-ESPARZA, L. M.; VELÁZQUEZ-ESTRADA, R. M.; SAYAGO-AYERDI, S. G.;

- SÁNCHEZ-BURGOS, J. A.; RAMÍREZ-MARES, M. V.; GARCÍA-MAGAÑA, M. DE L.; MONTALVO-GONZÁLEZ, E. Effect of thermosonication on polyphenol oxidase inactivation and quality parameters of soursop nectar. **LWT - Food Science and Technology**, [s. l.], v. 75, 545–551, 2017.
- APPAIAH, P.; SUNIL, L.; KUMAR, P. K. P.; KRISHNA, A. G. G. Physico-chemical characteristics and stability aspects of coconut water and kernel at different stages of maturity. **Journal of Food Science and Technology**, [s. l.], v. 52, n. 8, 5196–5203, 2015.
- ARAGÃO, W. M.; ISBERNER, IV.; CRUZ, E. M. de O. Água de coco. **Embrapa Tabuleiros Costeiros**, v. 32, 2001.
- ARAGÃO, F. B.; VERENA, É.; CAMBUI, F. Produção de água de coco de cultivares de coqueiro verde. **Embrapa Tabuleiros Costeiros**, 0–1, 2005.
- ASOKAPANDIAN, S.; PERIASAMY, S.; SWAMY, G. J. Ozone for fruit juice preservation. **Fruit Juices: Extraction, Composition, Quality and Analysis**, [s. l.], 2017.
- AUGUSTO, P. E. D.; IBARZ, R.; GARVÍN, A.; IBARZ, A. Peroxidase (POD) and polyphenol oxidase (PPO) photo-inactivation in a coconut water model solution using ultraviolet (UV). **Food Research International**, [s. l.], v. 74, 151–159, 2015.
- BOURKE, P.; ZIUZINA, D.; HAN, L.; CULLEN, P. J.; GILMORE, B. F. Microbiological interactions with cold plasma. **Journal of Applied Microbiology**, [s. l.], v. 123, n. 2, 308–324, 2017.
- BUßLER, S.; EHLBECK, J.; SCHLÜTER, O. K. Pre-drying treatment of plant related tissues using plasma processed air: Impact on enzyme activity and quality attributes of cut apple and potato. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, [s. l.], v. 40, 78–86, 2017.
- CAMPOS, C. F.; SOUZA, P. E. A.; COELHO, J. V.; GLÓRIA, M. B. A. Chemical composition, enzyme activity and effect of enzyme inactivation on flavor quality of green coconut water. **Journal of Food Processing and Preservation**, [s. l.], v. 20, n. 6, 487–500, 1996.
- CAO, X.; CAI, C.; WANG, Y.; ZHENG, X. The inactivation kinetics of polyphenol oxidase and peroxidase in bayberry juice during thermal and ultrasound treatments. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, [s. l.], v. 45, 169–178, 2018.
- CAPPELLETTI, M.; FERRENTINO, G.; ENDRIZZI, I.; APREA, E.; BETTA, E.; COROLLARO, M. L.; SPILIMBERGO, S. High Pressure Carbon Dioxide pasteurization of coconut water: A sport drink with high nutritional and sensory quality. **Journal of Food Engineering**, [s. l.], v. 145, 73–81, 2015.
- CARVALHO, J. M.; MAIA, G. A.; SOUSA, P. H. M.; MAIA JUNIOR, G. A. Água-de-coco: Propriedades nutricionais, funcionais e processamento. **Semina: Ciências Agrárias**, [s. l.], v. 27, n. 3, 437, 2006.
- CAVALCANTE, L. V. **A nova geografia da produção de coco no brasil**. XI - Encontro Nacional da ANPEGE, 2709–2720, 2015.

CHAKRABORTY, M.; MITRA, A. The antioxidant and antimicrobial properties of the methanolic extract from *Cocos nucifera* mesocarp. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 10, n. 3, 994–999, 2008.

CHEMAT, F.; KHAN, M. K. Ultrasonics sonochemistry applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. **Ultrasonics - Sonochemistry**, [s. l.], v. 18, n. 4, 813–835, 2011.

CHEMAT, F.; ROMBAUT, N.; SICAIRE, A. G.; MEULLEMIESTRE, A.; FABIANO-TIXIER, A. S.; ABERT-VIAN, M. Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. **Ultrasonics Sonochemistry**, [s. l.], v. 34, 540–560, 2017.

CHEN, J.; MONTANARI, A. M.; WIDMER, W. W. Two new polymethoxylated flavones, a class of compounds with potential anticancer activity, isolated from cold pressed dancy tangerine peel oil solids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s. l.], v. 45, n. 2, 364–368, 1997.

CHIDAMBARAM, S.; SINGARAJA, C.; PRASANNA, M. V.; GANESAN, M.; SUNDARARAJAN, M. Chemistry of tender coconut water from the cuddalore coastal region in Tamil Nadu, India. **Natural Resources Research**, [s. l.], v. 22, n. 2, 91–101, 2013.

CHIZOBA EKEZIE, F. G.; SUN, D. W.; CHENG, J. H. A review on recent advances in cold plasma technology for the food industry: Current applications and future trends. **Trends in Food Science and Technology**, [s. l.], v. 69, 46–58, 2017.

CHOI, M. H.; KIM, G. H.; LEE, H. S. Effects of ascorbic acid retention on juice color and pigment stability in blood orange (*Citrus sinensis*) juice during refrigerated storage. **Food Research International**, [s. l.], v. 35, n. 8, 753–759, 2002.

CHOURIO, A. M.; SALAIS-FIERRO, F.; MEHMOOD, Z.; MARTINEZ-MONTEAGUDO, S. I.; SALDAÑA, M. D. A. Inactivation of peroxidase and polyphenoloxidase in coconut water using pressure-assisted thermal processing. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, [s. l.], v. 49, 41–50, 2018.

CHUTIA, H.; KALITA, D.; MAHANTA, C. L.; OJAH, N.; CHOUDHURY, A. J. Kinetics of inactivation of peroxidase and polyphenol oxidase in tender coconut water by dielectric barrier discharge plasma. **LWT**, [s. l.], v. 101, 625–629, 2019.

COSTA, H. B.; SOUZA, L. M.; SOPRANI, L. C.; OLIVEIRA, B. G.; OGAWA, E. M.; KORRES, A. M. N.; ROMÃO, W. Monitoring the physicochemical degradation of coconut water using ESI-FT-ICR MS. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 174, 139–146, 2015.

CRUZ, R. M. S.; VIEIRA, M. C.; SILVA, C. L. M. Effect of heat and thermosonication treatments on peroxidase inactivation kinetics in watercress (*Nasturtium officinale*). **Journal of Food Engineering**, [s. l.], v. 72, n. 1, 8–15, 2006.

DA SILVA, S. B.; DE MELLO LUVIELMO, M.; GEYER, M. C.; PRÁ, I. Potencialidades do uso do ozônio no processamento de alimentos. **Semina: Ciências Agrárias**, [s. l.], v. 32, n. 2,

659–682, 2011.

DELGADO-POVEDANO, M. M.; LUQUE DE CASTRO, M. D. A review on enzyme and ultrasound: A controversial but fruitful relationship. **Analytica Chimica Acta**, [s. l.], v. 889, 1–21, 2015.

DOLAS, R.; SARAVANAN, C.; KAUR, B. P. Emergence and era of ultrasonic's in fruit juice preservation: A review. **Ultrasonics Sonochemistry**, [s. l.], v. 58, 104609, 2019.

ETZBACH, L.; PFEIFFER, A.; SCHIEBER, A.; WEBER, F. Effects of thermal pasteurization and ultrasound treatment on the peroxidase activity, carotenoid composition, and physicochemical properties of goldenberry (*Physalis peruviana L.*) puree. **Lwt**, [s. l.], v. 100, 69–74, 2019.

FERREIRA, J. M. S.; FONTES, H. R.; PASSOS, E. E. M.; BASTOS, E. A. Coco anão. **Informe Agropecuário**, [s. l.], v. 32, n. 264, 49–59, 2018.

FIROUZ, M. S.; ALI, F.; SOLEIMAN, H. Recent advances in ultrasound application as a novel technique in analysis, processing and quality control of fruits, juices and dairy products industries: A review. **Ultrasonics sonochemistry**, [s. l.], 2019.

FUNDO, J. F.; MILLER, F. A.; TREMARIN, A.; GARCIA, E.; BRANDÃO, T. R. S.; SILVA, C. L. M. Quality assessment of *Cantaloupe melon* juice under ozone processing. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, [s. l.], v. 47, 461–466, 2018a.

FUNDO, J. F.; MILLER, F. A.; TREMARIN, A.; GARCIA, E.; BRANDÃO, T. R. S.; SILVA, C. L. M. Quality assessment of *Cantaloupe melon* juice under ozone processing. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, [s. l.], v. 47, 461–466, 2018b.

GALLO, M.; FERRARA, L.; NAVIGLIO, D. Application of ultrasound in food science and technology: a perspective. **Foods**, [s. l.], v. 7, n. 10, 164, 2018.

GARCÍA, C. J.; GARCÍA-VILLALBA, R.; GIL, M. I.; TOMAS-BARBERAN, F. A. LC-MS untargeted metabolomics to explain the signal metabolites inducing browning in fresh-cut lettuce. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s. l.], v. 65, n. 22, 4526–4535, 2017.

HAN, Y.; CHENG, J.; SUN, D. Changes in activity, structure and morphology of horseradish peroxidase induced by cold plasma. **Food Chemistry**, [s. l.], 125240, 2019.

HAN, Y.; CHENG, J. H.; SUN, D. W. Activities and conformation changes of food enzymes induced by cold plasma: A review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, [s. l.], v. 59, n. 5, 794–811, 2019.

HANHINEVA, K.; ROGACHEV, I.; KOKKO, H.; MINTZ-ORON, S.; VENGER, I.; KÄRENLAMPI, S.; AHARONI, A. Non-targeted analysis of spatial metabolite composition in strawberry (*Fragaria ananassa*) flowers. **Phytochemistry**, [s. l.], v. 69, n. 13, 2463–2481, 2008.

HERCEG, Z.; KOVAČEVIĆ, D. B.; KLJUSURIĆ, J. G.; JAMBRAK, A. R.; ZORIĆ, Z.; DRAGOVIĆ-UZELAC, V. Gas phase plasma impact on phenolic compounds in pomegranate

juice. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 190, 665–672, 2016.

HOU, Y.; WANG, R.; GAN, Z.; SHAO, T.; ZHANG, X.; HE, M.; SUN, A. Effect of cold plasma on blueberry juice quality. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 290, 79–86, 2019.

HUANG, G.; CHEN, S.; DAI, C.; SUN, L.; SUN, W.; TANG, Y.; MA, H. Effects of ultrasound on microbial growth and enzyme activity. **Ultrasonics Sonochemistry**, [s. l.], v. 37, 2017.

ILLERA, A. E.; CHAPLE, S.; SANZ, M. T.; NG, S.; LU, P.; JONES, J.; BOURKE, P. Effect of cold plasma on polyphenol oxidase inactivation in cloudy apple juice and on the quality parameters of the juice during storage. **Food Chemistry**, [s. l.], 3, 2019.

JACKSON, J. C.; GORDON, A.; WIZZARD, G.; MCCOOK, K.; ROLLE, R. Changes in chemical composition of coconut (*Cocos nucifera*) water during maturation of the fruit. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, [s. l.], v. 84, n. 9, 1049–1052.

JAMBRAK, A. R. Non-thermal and innovative processing technologies. **Encyclopedia of Food Security and Sustainability**, [s. l.], 477–483, 2019.

JARAMILLO-SÁNCHEZ, G. M.; GARCIA LOREDO, A. B.; GÓMEZ, P. L.; ALZAMORA, S. M. Ozone processing of peach juice: impact on physicochemical parameters, color, and viscosity. **Ozone: Science and Engineering**, [s. l.], v. 40, n. 4, 305–312, 2017.

JARAMILLO SÁNCHEZ, G. M.; GARCIA LOREDO, A. B.; CONTIGIANI, E. V.; GÓMEZ, P. L.; ALZAMORA, S. M. Inactivation kinetics of peroxidase and polyphenol oxidase in peach juice treated with gaseous ozone. **International Journal of Food Science and Technology**, [s. l.], v. 53, n. 2, 347–355, 2018.

KAILAKU, S.; SETIAWAN, B.; SULAEMAN, A. The shelf life estimation of cold sterilized coconut water. **Planta Tropika: Journal of Agro Science**, [s. l.], v. 5, n. 1, 62–69, 2017.

KANG, J.; PRICE, W. E.; ASHTON, J.; TAPSELL, L. C.; JOHNSON, S. Identification and characterization of phenolic compounds in hydromethanolic extracts of sorghum wholegrains by LC-ESI-MSn. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 211, 215–226, 2016.

KHAN, M. K.; AHMAD, K.; HASSAN, S.; IMRAN, M.; AHMAD, N.; XU, C. Effect of novel technologies on polyphenols during food processing. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, [s. l.], v. 45, 361–381, 2017.

KOBAYASHI, H.; MORISAKI, N.; TAGO, Y.; HASHIMOTO, Y.; IWASAKI, S.; KAWACHI, E.; SHUDO, K. Identification of a major cytokinin in coconut milk. **Experientia**, [s. l.], v. 51, n. 11, 1081–1084, 1995.

KOSHANI, R.; ZIAEE, E.; NIAKOUSARI, M.; GOLMAKANI, M. T. Optimization of thermal and thermosonication treatments on pectin methyl esterase inactivation of sour orange juice (*Citrus aurantium*). **Journal of Food Processing and Preservation**, [s. l.], v. 39, n. 6, 567–573, 2015.

LAROUSSE, M. Plasma medicine: A brief introduction. **Plasma**, [s. l.], v. 1, n. 1, 47–60,

2018.

LIN, L. Z.; SUN, J.; CHEN, P.; MONAGAS, M. J.; HARNLY, J. M. UHPLC-PDA-ESI/HRM Snpfiling method to identify and quantify oligomeric proanthocyanidins in plant products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s. l.], v. 6, n. 39, 9387–9400, 2014.

LINDSAY ROJAS, M.; HELLMEISTER TREVILIN, J.; AUGUSTO, P. E. D. The ultrasound technology for modifying enzyme activity. **Scientia Agropecuaria**, [s. l.], v. 07, n. 02, 2016.

LLORENT-MARTÍNEZ, E. J.; ORTEGA-BARRALES, P.; ZENGIN, G.; MOCAN, A.; SIMIRGIOTIS, M. J.; CEYLAN, R.; AKTUMSEK, A. Evaluation of antioxidant potential, enzyme inhibition activity and phenolic profile of *Lathyrus cicera* and *Lathyrus digitatus*: Potential sources of bioactive compounds for the food industry. **Food and Chemical Toxicology**, [s. l.], v. 107, 609–619, 2017.

MAHNOT, N. K.; MAHANTA, C. L.; FARKAS, B. E.; KEENER, K. M.; MISRA, N. N. Atmospheric cold plasma inactivation of *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes* in tender coconut water: Inoculation and accelerated shelf-life studies. **Food Control**, [s. l.], v. 106, 106678, 2019.

MAHNOT, N. K.; MAHANTA, C. L.; KEENER, K. M.; MISRA, N. N. Strategy to achieve a 5-log *Salmonella* inactivation in tender coconut water using high voltage atmospheric cold plasma (HVACP). **Food Chemistry**, [s. l.], v. 284, 303–311, 2019.

MANDAL, R.; SINGH, A.; PRATAP SINGH, A. Recent developments in cold plasma decontamination technology in the food industry. **Trends in Food Science & Technology**, [s. l.], v. 80, 93–103, 2018.

MAPA. **Diário Oficial da União**. Diário Oficial Da União, 1–24, 2020.

MARTÍN-BELLOSO, O.; SOLIVA-FORTUNY, R.; ELEZ-MARTÍNEZ, P.; ROBERT MARSELLÉS-FONTANET, A.; VEGA-MERCADO, H. Non-thermal Processing Technologies. **Food Safety Management: A Practical Guide for the Food Industry**, [s. l.], 2014.

MARTINS, C. R.; JESUS, L. A. Produção e comercialização de coco no Brasil frente ao comércio internacional: Panorama 2014. **Comitê Local de Publicações Da Embrapa Tabuleiros Costeiros**, [s. l.], v. 1, n. 1, 53, 2014.

MATSUI, K. N.; GUT, J. A. W.; OLIVEIRA, P. V.; TADINI, C. C. Inactivation kinetics of polyphenol oxidase and peroxidase in green coconut water by microwave processing. **Journal of Food Engineering**, [s. l.], v. 88, n. 2, 169–176, 2008.

MISRA, N. N.; PANKAJ, S. K.; SEGAT, A.; ISHIKAWA, K. Cold plasma interactions with enzymes in foods and model systems. **Trends in Food Science and Technology**, [s. l.], v. 55, 39–47, 2016.

MISRA, N. N.; SCHLÜTER, O.; CULLEN, P. J. Plasma in food and agriculture. **Cold Plasma in Food and Agriculture: Fundamentals and Applications**, [s. l.], 1–16, 2016.

MJ, Z.; S, Z. Characterization of polyphenolics in grape pomace extracts using ESI Q-TOF MS/MS. **Food Science & Nutrition**, [s. l.], v. 1, n. 1, 1–10, 2015.

MONTALBO-LOMBOY, M.; KHANAL, S. K.; VAN LEEUWEN, J.; RAJ RAMAN, D.; DUNN, L.; GREWELL, D. Ultrasonic pretreatment of corn slurry for saccharification: A comparison of batch and continuous systems. **Ultrasonics Sonochemistry**, [s. l.], v. 17, n. 5, 939–946, 2010.

MOTTRAM, D. S. The maillard reaction: source of flavour in thermally processed foods. **Flavours and Fragrances**, [s. l.], 269–283, 2007.

O'DONNELL, C.; CULLEN, P. J. **Ozone in Food Processing**, [s. l.], 2012.

O'DONNELL, C. P.; TIWARI, B. K.; BOURKE, P.; CULLEN, P. J. Effect of ultrasonic processing on food enzymes of industrial importance. **Trends in Food Science & Technology**, [s. l.], v. 21, n. 7, 2010.

O'SULLIVAN, J.; MURRAY, B.; FLYNN, C.; NORTON, I. Comparison of batch and continuous ultrasonic emulsification processes. **Journal of Food Engineering**, [s. l.], v. 167, 114–121, 2015.

OLIVEIRA, A. F. A.; MAR, J. M.; SANTOS, S. F.; SILVA JÚNIOR, J. L.; KLUCZKOVSKI, A. M.; BAKRY, A. M.; CAMPELO, P. H. Non-thermal combined treatments in the processing of açai (*Euterpe oleracea*) juice. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 265, 57–63, 2018.

PADUMADASA, C.; DHARMADANA, D.; AM, A. Distribution of progestogenic proanthocyanidins within the inflorescence of *Cocos nucifera* L. **Journal of Medicinal Plants Studies**, [s. l.], v. 4, n. 4, 38–43, 2016.

PANDISELVAM, R.; SUNOJ, S.; MANIKANTAN, M. R.; KOTHAKOTA, A.; HEBBAR, K. B. Application and kinetics of ozone in food preservation. **Ozone: Science and Engineering**, [s. l.], v. 39, n. 2, 115–126, 2017.

PANIWNYK, L. Applications of ultrasound in processing of liquid foods: A review. **Ultrasonics Sonochemistry**, [s. l.], v. 38, 794–806, 2017.

PANKAJ, S. K.; MISRA, N. N.; CULLEN, P. J. Kinetics of tomato peroxidase inactivation by atmospheric pressure cold plasma based on dielectric barrier discharge. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, [s. l.], v. 19, 153–157, 2013.

PANKAJ, S. K.; BUENO-FERRER, C.; MISRA, N. N.; MILOSAVLJEVIĆ, V.; O'DONNELL, C. P.; BOURKE, P.; CULLEN, P. J. Applications of cold plasma technology in food packaging. **Trends in Food Science & Technology**, [s. l.], v. 35, n. 1, 5–17, 2014.

PANKAJ, SHASHI K.; KEENER, K. M. Cold plasma: background, applications and current trends. **Current Opinion in Food Science**, [s. l.], v. 16, 49–52, 2017.

PANKAJ, S. K.; WAN, Z.; COLONNA, W.; KEENER, K. M. Effect of high voltage atmospheric cold plasma on white grape juice quality. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, [s. l.], v. 97, n. 12, 4016–4021, 2017.

PRABHA, V.; BARMA, R. D. E. B.; SINGH, R.; MADAN, A. Ozone technology in food processing: A Review Ozone Technology in Food Processing. **Trends in Biosciences**, [s. l.], 2016.

PRADES, A.; DORNIER, M.; DIOP, N. S.; MALLESH, S.; VANDANA, K.; SRINIVASA RAO, P. Thermal treatment of tender coconut water – enzyme inactivation and biochemical characterization. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, [s. l.], v. 6, n. 5, 2919–2931, 2017.

PAIN, J. P. Coconut water preservation and processing: a review. **Fruits**, [s. l.], v. 67, n. 3, 157–171, 2012.

PRADES, A.; ORNIER, M. D.; IOP, N. D.; AIN, J. P. Coconut water uses, composition and properties: A review. **Fruits**, [s. l.], v. 67, n. 2, 87–107, 2012.

PRADO, F. C.; LINDNER, J. D. D.; INABA, J.; THOMAZ-SOCCOL, V.; SOCCOL, C. R.; KAUR BRAR, S. Development and evaluation of a fermented coconut water beverage with potential health benefits. **Journal of Functional Foods**, [s. l.], v. 12, 489–497, 2015.

RIBEIRO, M. M.; VALDRAMIDIS, V. P.; NUNES, C. A.; SOUZA, V. R. Synergistic effect of thermosonication to reduce enzymatic activity in coconut water. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, [s. l.], v. 41, 404–410, 2017.

RICHARDSON, P. I. C.; MUHAMADALI, H.; LEI, Y.; GOLOVANOV, A. P.; ELLIS, D. I.; GOODACRE, R. Detection of the adulteration of fresh coconut water: Via NMR spectroscopy and chemometrics. **Analyst**, [s. l.], v. 144, n. 4, 1401–1408, 2019.

RODRÍGUEZ, Ó.; GOMES, W. F.; RODRIGUES, S.; FERNANDES, F. A. N. Effect of indirect cold plasma treatment on cashew apple juice (*Anacardium occidentale* L.). **LWT**, [s. l.], v. 84, 457–463, 2017a.

RODRÍGUEZ, Ó.; GOMES, W. F.; RODRIGUES, S.; FERNANDES, F. A. N. Effect of indirect cold plasma treatment on cashew apple juice (*Anacardium occidentale* L.). **LWT**, [s. l.], v. 84, 457–463, 2017a.

RODSAMRAN, P.; SOTHORNVIT, R. Bioactive coconut protein concentrate films incorporated with antioxidant extract of mature coconut water. **Food Hydrocolloids**, [s. l.], v. 79, 243–252, 2018.

ROJAS, M. L.; TREVILIN, J. H.; FUNCIA, E. S.; GUT, J. A. W.; AUGUSTO, P. E. D. Using ultrasound technology for the inactivation and thermal sensitization of peroxidase in green coconut water. **Ultrasonics Sonochemistry**, [s. l.], v. 36, 173–181, 2017.

ROSA, M.; ABREU, F. A. P. **Água-de-coco: métodos de conservação**, 2000.

SAEEDUDDIN, M.; ABID, M.; JABBAR, S.; WU, T.; HASHIM, M. M.; AWAD, F. N.; ZENG, X. Quality assessment of pear juice under ultrasound and commercial pasteurization processing conditions. **LWT - Food Science and Technology**, [s. l.], v. 64, n. 1, 2015.

SANGANAMONI, S.; MALLESH, S.; VANDANA, K.; SRINIVASA RAO, P. Thermal treatment of tender coconut water – enzyme inactivation and biochemical characterization. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, [s. l.], v. 6, n. 5, 2919–2931, 2017.

SANTOS, V.; RODRIGUES, S.; FERNANDES, F. Improvements on the stability and vitamin content of acerola juice obtained by ultrasonic processing. **Foods**, [s. l.], v. 7, n. 5, 68, 2018.

SCHOLTZ, V.; PAZLAROVA, J.; SOUSKOVA, H.; KHUN, J.; JULAK, J. Nonthermal plasma — A tool for decontamination and disinfection. **Biotechnology Advances**, [s. l.], v. 33, n. 6, 2015.

SOBOLEV, A. P.; THOMAS, F.; DONARSKI, J.; INGALLINA, C.; CIRCI, S.; CESARE MARINCOLA, F.; MANNINA, L. Use of NMR applications to tackle future food fraud issues. **Trends in Food Science & Technology**, [s. l.], v. 91, 347–353, 2019.

SORIA, A. C.; VILLAMIEL, M. Effect of ultrasound on the technological properties and bioactivity of food: a review. **Trends in Food Science & Technology**, [s. l.], v. 21, n. 7, 323–331, 2010.

SPRAUL, M.; SCHÜTZ, B.; HUMPFER, E.; MÖRTTER, M.; SCHÄFER, H.; KOSWIG, S.; RINKE, P. Mixture analysis by NMR as applied to fruit juice quality control. **Magnetic Resonance in Chemistry**, [s. l.], v. 47, 2009.

SPRAUL, M.; SCHÜTZ, B.; RINKE, P.; KOSWIG, S.; HUMPFER, E.; SCHÄFER, H.; MINOJA, A. NMR-based multi parametric quality control of fruit juices: SGF profiling. **Nutrients**, [s. l.], v. 1, n. 2, 2009.

SUCUPIRA, N. R.; ALVES FILHO, E. G.; SILVA, L. M. A.; BRITO, E. S.; WURLITZER, N. J.; SOUSA, P. H. M. NMR spectroscopy and chemometrics to evaluate different processing of coconut water. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 216, 217–224, 2017.

SUROWSKY, B.; FISCHER, A.; SCHLUETER, O.; KNORR, D. Cold plasma effects on enzyme activity in a model food system. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, [s. l.], v. 19, 146–152, 2013.

TAN, T. C.; CHENG, L. H.; BHAT, R.; RUSUL, G.; EASA, A. M. Composition, physicochemical properties and thermal inactivation kinetics of polyphenol oxidase and peroxidase from coconut (*Cocos nucifera*) water obtained from immature, mature and over-mature coconut. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 142, 121–128, 2014.

TANG, F.; VASAS, M.; HATZAKIS, E.; SPYROS, A. Magnetic resonance applications in food analysis. **Annual Reports on NMR Spectroscopy**, [s. l.], 2019.

TAPPI, S.; BERARDINELLI, A.; RAGNI, L.; DALLA ROSA, M.; GUARNIERI, A.; ROCCULI, P. Atmospheric gas plasma treatment of fresh-cut apples. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, [s. l.], v. 21, 114–122, 2014.

TAPPI, S.; GOZZI, G.; VANNINI, L.; BERARDINELLI, A.; ROMANI, S.; RAGNI, L.; ROCCULI, P. Cold plasma treatment for fresh-cut melon stabilization. **Innovative Food**

Science & Emerging Technologies, [s. l.], v. 33, 225–233, 2016a.

TAPPI, S.; GOZZI, G.; VANNINI, L.; BERARDINELLI, A.; ROMANI, S.; RAGNI, L.; ROCCULI, P. Cold plasma treatment for fresh-cut melon stabilization. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, [s. l.], v. 33, 225–233, 2016b.

TEN BOSCH, L.; PFOHL, K.; AVRAMIDIS, G.; WIENEKE, S.; VIÖL, W.; KARLOVSKY, P. (2017). Plasma-based degradation of mycotoxins produced by *Fusarium*, *Aspergillus* and *Alternaria species*. **Toxins**, [s. l.], v. 9, n. 3, 1–12, 2017.

TORLAK, E. Efficacy of ozone against *Alicyclobacillus acidoterrestris* spores in apple juice. **International Journal of Food Microbiology**, [s. l.], v. 172, 1–4, 2014.

TORRES, B.; TIWARI, B. K.; PATRAS, A.; WIJNGAARD, H. H.; BRUNTON, N.; CULLEN, P. J.; O'DONNELL, C. P. Effect of ozone processing on the colour, rheological properties and phenolic content of apple juice. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 124, n. 3, 721–726, 2011.