



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

NATÁLIA ROCHA SUCUPIRA

**EFEITO DO PROCESSO UHT (*ULTRA HIGH TEMPERATURE*) NAS
CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS, ENZIMÁTICAS E SENSORIAIS DE ÁGUA DE
COCO (*Cocos nucifera* L.)**

FORTALEZA
2016

NATALIA ROCHA SUCUPIRA

**EFEITO DO PROCESSO UHT (*ULTRA HIGH TEMPERATURE*) NAS
CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS, ENZIMÁTICAS E SENSORIAIS DE ÁGUA DE
COCO (*Cocos nucifera* L.)**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Henrique Machado de Sousa

FORTALEZA
2016

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)

- S939e Sucupira, Natalia Rocha.
Efeito do processo UHT (Ultra High Temperature) nas características químicas, enzimáticas e sensoriais de água de coco (*Cocos nucifera* L.) / Natalia Rocha Sucupira. – 2016.
150 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Fortaleza, 2016.
Orientação: Prof. Dr. Paulo Henrique Machado de Sousa.
Coorientação: Prof. Dr. Nédio Jair Wurlitzer.
1. Água de coco. 2. UHT. 3. Processo térmico. 4. Escurecimento. I. Título.

CDD 664

**EFEITO DO PROCESSO UHT (*ULTRA HIGH TEMPERATURE*) NAS
CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS, ENZIMÁTICAS E SENSORIAIS DE ÁGUA DE
COCO (*Cocos nucifera* L.)**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Aprovada em: ____ / ____ / ____

Banca Examinadora

Prof. Dr. Paulo Henrique Machado de Sousa (Orientador)
Universidade Federal do Ceará - UFC

Dr. Nédio Jair Wurlitzer (Co-orientador)
Embrapa Agroindústria Tropical - CE

Dra. Ana Paula Dionísio
Embrapa Agroindústria Tropical - CE

Prof. Dr. Raimundo Wilane de Figueiredo
Universidade Federal do Ceará - UFC

Prof. Dr. Geraldo Arraes Maia
Universidade Federal do Ceará - CE

Profª Dra. Joelia Marques de Carvalho
Instituto Federal do Ceará - CE

Profª Dra. Ana Carolina da Silva Pereira
Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira - CE

A Deus, pela força, proteção, fé e paz.

A Nossa Senhora, pela proteção.

Aos meus queridos pais Ana Aglayr e Crisério
pela confiança, apoio e amor.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida, pelo seu infinito amor, pela sua providência, pela constante presença, por me guiar e me abrandar, por colocar sempre pessoas maravilhosas no meu caminho, por me proporcionar determinação e força para superar todas as barreiras e conquistar mais uma etapa valiosa da minha vida. Sou grata!

À Universidade Federal do Ceará - UFC, pela oportunidade de realização da graduação, mestrado e agora o doutorado e a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, pelo financiamento do projeto e por ceder seu espaço para a realização desta pesquisa.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de estudos concedida para realização deste trabalho.

Ao meu orientador Professor Dr. Paulo Henrique Machado de Sousa pelo conhecimento, paciência, disponibilidade, por ser sempre tão solícito e disposto a contribuir para o meu crescimento profissional.

Ao meu co-orientador Dr. Nédio Jair Wurlitzer, pela valiosa contribuição para a realização deste trabalho, disposição, paciência, presteza e empenho, por fazer-se presente nos momentos do experimento, por todo conhecimento adquirido e pela confiança em mim depositada.

Ao meu primeiro orientador desde a época de iniciação científica, Professor Dr. Geraldo Arraes Maia, pela competência, torcida e ensinamentos transmitidos no decorrer dessa jornada.

Ao Prof. Dr. Raimundo Wilane de Figueiredo pela colaboração, apoio e sugestões.

À pesquisadora Dra. Ana Paula Dionísio, pela importante contribuição nesta pesquisa, pelas preciosas sugestões, por todo o carinho e força transmitidos durante o decorrer deste trabalho. Um exemplo de competência.

Às professoras Dra. Joelia Marques e Dra. Ana Carolina Pereira, por aceitarem participar desta banca, pela atenção e por todas as valiosas considerações e sugestões para a melhoria deste trabalho.

Ao pesquisador e Professor Dr. Edy Sousa Brito, pelo apoio nas análises de RMN realizadas no laboratório multiusuário de Química de Produtos Naturais da Embrapa.

Ao Pesquisador Dr. Fernando Abreu, por todas as opiniões sobre a água de coco, disposição e contribuição no decorrer dos experimentos e pelo ótimo convívio.

À Professora Evânia Altina Teixeira de Figueiredo e as bolsistas do laboratório de Microbiologia de Alimentos, Daniele e Gisane, pela realização das análises microbiológicas.

A todos os professores do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará pelos conhecimentos repassados no decorrer da graduação, mestrado e doutorado.

Aos analistas e técnicos da Embrapa Agroindústria Tropical, Lorena, pela disposição e presteza nas análises de ressonância magnética, ao Paulo, pela paciência e atenção. Agradeço a Idila, ao Hilton e a Márcia Régia, pela presteza e apoio durante as análises. Em especial a Adna, ao Arthur e a Cláudia, pelo empenho em ajudar, pelo excelente convívio, pelas risadas, enfim, por toda a paciência e atenção a mim dedicada.

Aos pesquisadores Janice Lima e Deborah Garruti pelo apoio, atenção e disponibilidade em ajudar, durante todo meu período na Embrapa.

Ao Dr. Elenilson Godoy, pela disposição em ajudar, pela presteza e por toda dedicação na tabulação de dados e na interpretação das análises de RMN.

A todos os colegas bolsistas e estagiários que passaram pelo Laboratório de Produtos Agroindustriais no decorrer desse trabalho: Johnnathan, Morgana, Raquel, Talita, Sinara, Fabi, Diogo, Gustavo, Mayara, Carol, Márcia, Karine, Milena, Andreza e Késsia, por sempre poder contar com o apoio de todos vocês nas análises e nos dias de processamento, pelo excelente ambiente de trabalho, convívio fraternal e amizade conquistada.

Aos meus amados pais Ana Aglayr e Crisério, pelo amor, pela confiança, pelo apoio incondicional, por sempre acreditar em mim e na minha capacidade de vencer, me incentivando e estimulando sempre! Por nunca medirem esforços para me ajudar!

Ao meu querido irmão Leonardo, pela compreensão, apoio, ajuda e carinho.

Ao meu esposo Júlio, pelo amor, compreensão, pelo carinho transmitido, pelo apoio e confiança, por sempre me incentivar nas situações adversas encontradas durante a pesquisa e por estar ao meu lado em todos os momentos.

À minha família pelo apoio, compreensão e por sempre torcerem pelo meu sucesso. Aos meus avós Francisco e Maria, pelos ensinamentos, pelo carinho e confiança.

Ao secretário do Programa de Pós-Graduação Paulo Mendes, por sua disponibilidade, atenção e paciência.

À Rita Granjeiro, por doar parte da matéria prima para realização desta pesquisa.

Agradeço a todos aqueles que por ventura não foram citados, mas que, direta ou indiretamente, contribuíram para realização deste trabalho.

Muito obrigada!

“O Senhor é o meu pastor, nada me faltará.
Deitar-me faz em verdes pastos, guia-me
mansamente a águas tranquilas. Refrigera a
minha alma; guia-me pelas veredas da justiça,
por amor do seu nome.”

Salmo (23-1:3)

"Comece fazendo o que é necessário, depois o
que é possível, e de repente você estará
fazendo o impossível."

(São Francisco de Assis)

RESUMO

O objetivo desta pesquisa foi estudar as condições de esterilização UHT da água de coco verde, evitando as alterações de cor, físico-químicas e de sabor. O trabalho foi organizado em cinco capítulos, desenvolvidos a fim de atingir os objetivos estipulados. No capítulo 1 foram realizados quatro experimentos; o primeiro teve como finalidade avaliar quatro diferentes binômios tempo X Temperatura (subprocessamento e processamento) e verificar a atividade enzimática e as mudanças de cor na água de coco. O segundo experimento objetivou analisar o uso de aditivo antioxidantes (ácido ascórbico e metabissulfito de sódio) nas características físico-químicas, enzimáticas e de cor da água de coco. O experimento três objetivou investigar a mudança de cor e a regeneração enzimática nas condições de processamento e subprocessamento ao longo de 28 dias de armazenamento ($28^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$). O experimento quatro avaliou sensorialmente a água de coco através de análise de aceitação global e levantamento de descritores. No capítulo dois foi utilizado um Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) 2^3 com a finalidade de escolher a condição de esterilização UHT com menor atividade enzimática e alteração de cor, associada ao uso do sulfito. O objetivo do referido capítulo foi avaliar o efeito dos parâmetros de esterilização na qualidade da água de coco após 24 horas e após 45 dias de armazenamento a temperatura ambiente ($28^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$). O capítulo três objetivou avaliar a estabilidade físico-química, enzimática e de cor da água de coco submetida a esterilização UHT ($136^{\circ}\text{C}/8\text{s}$), na ausência e presença de $20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de sulfito, durante 180 dias, bem com o realizar análise sensorial e teste de esterilidade comercial. Com relação ao capítulo quatro, a finalidade foi realizar a avaliação quantitativa dos compostos metabólitos primários da água de coco esterilizada por UHT, na presença ou ausência do aditivo sulfito, utilizando RMN (Ressonância Magnética Nuclear) e quimiometria. O capítulo cinco teve como objetivo desenvolver *blends* compostos por água de coco e polpas de frutos tropicais e avaliar o impacto do processamento térmico (pasteurização e esterilização UHT) sobre os componentes funcionais e sobre o conteúdo bioacessível após digestão simulada *in vitro*. No que se refere às conclusões de cada capítulo, pode-se observar que no capítulo um, a água de coco apresentou uma coloração rosada na condição de subprocessamento, não se correlacionando com a atividade das enzimas PPO e POD, polifenoloxidase e peroxidase, respectivamente; o uso de ácido ascórbico tornou a água de coco amarelada, sendo adotado o uso do sulfito nos capítulos seguintes; não houve regeneração enzimática no decorrer dos 28 dias de observação, nos quais verificou-se surgimento da cor rosa nos tratamentos de subprocessamento. Não foi observada diferença significativa entre os tratamentos para a

aceitação global de água de coco esterilizada. Acerca do capítulo dois, após 45 dias a coordenada de cor b^* se correlacionou positivamente com a temperatura, com tendência a cor amarela. Não houve otimização do processo de esterilização, todavia a condição mais indicada foi o ponto central ($135^{\circ}\text{C}/9\text{s}$), associada ao uso do sulfito em concentrações superiores a $20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Para o capítulo três, constatou-se que a água de coco esterilizada por UHT apresentou estabilidade físico-química e enzimática. A coordenada de cor a^* decresceu e a turbidez aumentou ao longo do tempo de 180 dias. Quanto à análise sensorial, não foi verificada diferença estatística entre os tratamentos de esterilização com sulfito e sem sulfito. Para a análise de esterilidade comercial, houve crescimento de mesófilas em um dos tratamentos. Com relação ao capítulo quatro, conclui-se que a temperatura foi o parâmetro que mais afetou as concentrações dos compostos majoritários da água de coco: Glicose, sacarose, frutose, etanol e ácido málico. Constatou-se também que menores temperaturas (110°C) associadas ao uso do aditivo antioxidante sulfito contribuem para a manutenção destes compostos. Quanto ao capítulo cinco, conclui-se que todos os tratamentos exibiram diferenças estatísticas significativas entre a amostra nativa e após a simulação da digestão gastrointestinal *in vitro*, em que somente cerca de 10% a 20% do conteúdo de compostos funcionais tornou-se bioacessível. O *blend* esterilizado por UHT apresentou maiores valores médios de fração bioacessível quando comparado ao *blend* pasteurizado, sugerindo que a condição de esterilização pode ser vantajosa no que diz respeito ao conteúdo de atividade antioxidante total que se tornou bioacessível após a digestão gastrointestinal. Os resultados encontrados neste trabalho indicam que o uso da tecnologia UHT associada ao uso de sulfito foi útil na preservação da água de coco verde e minimizou as reações de escurecimento, além de revelar aceitação sensorial positiva.

Palavras-chave: Água de coco. UHT. Processo térmico. Escurecimento.

ABSTRACT

The objective of this research was to study the UHT sterilization conditions of the green coconut water, avoiding the color, physical-chemical and taste changes. The work was organized into five chapters, developed in order to achieve the stipulated goals. In chapter 1 were conducted four experiments; the first was to evaluate four different binomials time X temperature (subprocessing and processing) and check the enzymatic activity and the color changes in coconut water. The second experiment aimed to analyze the use of antioxidant additives (ascorbic acid and sodium metabisulfite) in the physico-chemical enzymatic and color characteristics of coconut water. The third experiment was to investigate the change of color and the enzymatic regeneration in processing conditions and subprocessamento over 28 days storage ($28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$). The fourth experiment evaluated the coconut water through the analysis of the global acceptance and survey descriptors. In chapter two it is used a rotational central composite design (CCRD) 2^3 in order to choose UHT sterilization condition with reduced enzyme activity and color change, associated with the use of sulphite. The purpose of said section was to evaluate the effect of sterilization parameters quality of coconut water after 24 hours and after 45 days storage at room temperature ($28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$). Chapter three aimed to evaluate the physical- chemical, enzymatic and color stability of coconut water submitted to UHT sterilization ($136^{\circ}\text{C}/8\text{s}$) in the absence and presence of 20 mg. L^{-1} of sulfite, during 180 days and to perform sensory analysis and commercial sterility test. With respect to chapter four, the purpose was to perform a quantitative evaluation of the primary metabolites of coconut water sterilized by UHT in the presence or absence of additive sulfite, using NMR (Nuclear Magnetic Resonance) and chemometrics. Chapter five aimed to develop blends composed of coconut water and tropical fruit pulps and assess the impact of thermal processing (pasteurization and UHT sterilization) on the functional components and the bioaccessible content after simulated digestion in vitro. As regards the conclusions of each chapter can be seen that in chapter one, the rose coconut water in subprocessing condition does not correlate with the activity of enzymes PPO and POD, polyphenol oxidase and peroxidase, respectively; the use of ascorbic acid has a yellowish coconut water, and adopted the use of sulfite in the following chapters; there was no enzymatic reactivate during 28 days of observation, in which it was in the appearance of pink in subprocessing treatments. There was no significant difference between treatments for global acceptance of sterile coconut water. About chapter two, after 45 days the color coordinate b^* was positively correlated

with temperature, with a tendency to yellow. There was no optimization of the sterilization process, however, the most suitable condition is the center point (135° C/9s), associated with the use of sulphite in concentrations above 20 mg. L⁻¹. For chapter three, it was found that the coconut water sterilized by UHT showed physico-chemical and enzymatic stability. The color coordinate a* decreased and the turbidity increased over time of 180 days. As for the sensory analysis did not reveal any statistical difference between the sterilization treatment with sulphite and without sulfite. For the commercial sterility analysis, there was growth in a mesophilic treatments. Regarding the chapter four, it is concluded that the temperature was the parameter most affected the concentrations of major compounds of coconut water: glucose, sucrose, fructose, malic acid and ethanol. It was also found that lower temperatures (110°C) associated with the use of the sulfite antioxidant additive contributing to the maintenance of these compounds. As for the chapter five, it is concluded that all treatments showed statistically significant differences between the native sample and after simulating the gastrointestinal digestion in vitro, in which only about 10% to 20% of the content of functional compounds became bioaccessible. The UHT sterilized blend exhibited higher mean values bioaccessible fraction when compared to the pasteurized blend, suggesting that the sterilization condition may be advantageous with regard to total antioxidant content which became bioaccessible following gastrointestinal digestion. The results of this study indicate that the use of UHT technology associated with sulphite use was useful in the preservation of green coconut water and minimised the browning reactions, as well as revealing positive sensory acceptance.

Keywords: Coconut water. UHT. Thermal Process. Browning.

LISTA DE FIGURAS

REVISÃO

Figura 1	Fruto do coqueiro Anão Verde entre seis e sete meses de desenvolvimento.....	25
Figura 2	Reação de escurecimento enzimático a partir da polifenoloxidase (PPO)...	29
Figura 3	Mecanismo de escurecimento enzimático a partir da peroxidase (POD)....	29

CAPÍTULO 1

Figura 1	Fluxograma de processamento e envase da água de coco.....	56
Figura 2	Trocador de calor Armfield FT74.....	57
Figura 3	Esquema da sequência dos experimentos realizados na água de coco.....	58
Figura 4	Coloração dos tratamentos de água de coco 24 h e 9 dias após o processo UHT nos quatro diferentes binômios e armazenada a temperatura ambiente ($28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$).....	67
Figura 5	Água de coco sem aditivo, com ácido acórbico e com sulfito após 21, 96 e 150 dias de armazenamento a temperatura ambiente ($28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$).....	69
Figura 6	Variação do pH(a) e dos SST (b) em função do tempo de armazenamento de 28 dias para os tratamentos A, B, C e D de água de coco.....	70
Figura 7	Variação das coordenadas L^* , a^* e b^* em função do tempo de armazenamento de 28 dias para os tratamentos A, B, C e D de água de coco.....	71
Figura 8	Variação das coordenadas a^* e b^* em função do tempo de armazenamento de 28 dias para os tratamentos A, B, C e D de água de coco.....	72
Figura 9	Mudança de cor observada na água de coco após 2 dias de processamento.....	72
Figura 10	Variação da atividade das enzimas Polifenoloxidase e Peroxidase em função do tempo de armazenamento (28 dias) para os tratamentos A, B, C e D de água de coco.....	73
Figura 11	Variação do teor de sulfito em função do tempo de armazenamento de 28 dias para os tratamentos B e D de água de coco.....	74
Figura 12	Variação da turbidez em função do tempo de armazenamento de 28 dias para os tratamentos B e D de água de coco.....	75

CAPÍTULO 2

Figura 1	Superfície de resposta para sulfito residual.....	87
Figura 2a	Superfície de resposta para o teor de sulfito residual (SO ₂)	90
Figura 2b	Superfície de resposta para cor - b*.....	90

CAPÍTULO 3

Figura 1	Águas de coco A e B tratadas por UHT, após o processamento (1) e após 180 dias de armazenamento(2).....	104
Figura 2	Média da coordenada a* das águas de coco esterilizadas por UHT armazenadas por 180 dias em temperatura ambiente (25±2°C).....	105
Figura 3	Média da turbidez da água de coco esterilizada por UHT armazenada por 180 dias em temperatura ambiente (25±2°C).....	107
Figura 4	Histograma de frequência para os termos atribuídos a água de coco sem sulfito e água de coco com sulfito.....	112

CAPÍTULO 4

Figura 1	(A) Representação espectral de ¹ HNMR de água de coco na região expandida de 1,0-3,0 mg.L-1 (B) a região expandida de 3,0-6,0 mg.L-1 e (C) e na região expandida de 6,0-10,0 mg.L-1.....	124
Figura 2	Análise de Box-and-whisker das regiões espectrais das amostras	125
Figura 3	Escores de PC1 e PC2 (lado esquerdo) e cargas (lado direito) do sistema para a água de coco: (A) usando todos os espectros; (B) após o processamento.....	128
Figura 4	Escores do sistema de coordenadas PC1 vs. PC2 para a região alifática da água de coco: (A) usando todos os espectros; (B) após o processamento.....	129
Figura 5	Concentrações em (mmol.L-1) de sacarose, frutose, e β -glicose, etanol e ácido málico na água de coco.....	130

LISTA DE TABELAS

REVISÃO

Tabela 1	Características físico-químicas da água de coco da variedade anã em diferentes estádios de maturação.....	26
Tabela 2	Padrões de Identidade e Qualidade (PIQs) para água de coco processada (IN 27/2009).....	35

CAPÍTULO 1

Tabela 1	Descrição das condições de trabalho para avaliar o efeito da temperatura na atividade enzimática da água de coco.....	59
Tabela 2	Tratamentos utilizando antioxidantes ácido ascórbico ou metabissulfito de sódio.....	60
Tabela 3	Condições e denominações dos tratamentos de água de coco analisados..	61
Tabela 4	Médias das atividades enzimáticas em diferentes temperaturas, 24h após processamento UHT.....	65
Tabela 5	Parâmetros de cor da água de coco 24 horas após processamento.....	66
Tabela 6	Resultados das análises físico-químicas e enzimáticas da água de coco UHT tratada com antioxidantes.....	68
Tabela 7	Valores médios para o atributo aceitação global das águas de coco controle e esterilizadas por UHT.....	76
Tabela 8	Termos gerados pela equipe de provadores treinados para aroma e o sabor da água de coco, através do <i>free list</i>	77

CAPÍTULO 2

Tabela 1	Variáveis e níveis do planejamento experimental completo 2 ³	85
Tabela 2	Resultados do DCCR após 24h de processamento UHT.....	86
Tabela 3	Análise de variância (ANOVA) para o teor de sulfito residual (TSR) da água de coco.....	87
Tabela 4	Resultados DCCR de águas de coco esterilizada por UHT, após 45 dias de processamento.....	89
Tabela 5	Análise de variância (ANOVA) para cor (b*) e o teor de sulfito residual (TSR) da água de coco 45 dias após processo	89

CAPÍTULO 3

Tabela 1	Análises físico-químicas da água de coco processada por UHT durante o armazenamento por 180 dias sob temperatura ambiente ($28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$).....	99
Tabela 2	Análises de cor (L^* , a^* e b^*) e turbidez da água de coco processada por UHT durante o armazenamento por 180 dias sob temperatura ambiente ($28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$).....	103
Tabela 3	Resultados para atividade enzimática da peroxidase (POD) e polifenoloxidase (PPO) da água de coco processada por UHT durante o armazenamento por 180 dias sob temperatura ambiente ($28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$).....	108
Tabela 4	Valores médios para os atributos de aceitação global, sabor e intenção de compra para as amostras de água de coco.....	110

CAPÍTULO 4

Tabela 1	Condições dos tratamentos de água de coco utilizados.....	121
-----------------	---	-----

CAPÍTULO 5

Tabela 1	Formulação para obtenção de sucos mistos de água de coco com frutas tropicais com alto teor de polifenóis e atividade antioxidante.....	137
Tabela 2	Valores médios para AA, PET e AAT para água de coco, <i>blend</i> sem água de coco, <i>blend</i> com água de coco <i>in natura</i> , <i>blend</i> com água de coco pasteurizado e <i>blend</i> com água de coco esterilizado por UHT.....	141

LISTA DE APÊNDICE

APÊNDICE A	Quadrado médio (QM) dos parâmetros aceitação global, sabor e intenção de compra da água de coco.....	150
APÊNDICE B	Quadrado médio (QM) das características químicas e físico-químicas de pH, sólidos solúveis, acidez titulável, L*, a*, b*, enzima peroxidase, turbidez e teor de sulfito de água de coco esterilizada por UHT, com e sem sulfito.....	151

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	21
2	OBJETIVOS.....	23
2.1	Objetivo Geral.....	23
2.2	Objetivos Específicos.....	22
3	REVISÃO DE LITERATURA.....	24
3.1	Água de coco.....	24
3.1.1	<i>Composição química.....</i>	<i>25</i>
3.2	Enzimas oxidativas: polifenoloxidase e peroxidase.....	28
3.3	Alterações de cor e escurecimento na água de coco.....	32
3.4	Industrialização e métodos de conservação.....	33
3.4.1	<i>Conservação UHT.....</i>	<i>36</i>
3.5	Análise Sensorial.....	38
3.6	Ressonância Magnética Nuclear (RMN) e Quimiometria.....	39
3.7	Bioacessibilidade.....	41
	REFERÊNCIAS.....	43
	CAPÍTULO 1: EFEITO DAS CONDIÇÕES DE PROCESSO UHT E USO DE ADITIVOS NAS CARACTERÍSTICAS ENZIMÁTICAS, FÍSICO -QUÍMICAS E DE COR DA ÁGUA DE COCO.....	53
	RESUMO.....	53
1.1	INTRODUÇÃO.....	54
1.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	55
1.2.1	<i>Material.....</i>	<i>55</i>
1.2.2	<i>Processamento UHT (Ultra High Temperature).....</i>	<i>55</i>
1.2.3	<i>Experimentos de processo UHT em água de coco.....</i>	<i>57</i>
1.2.3.1	<i>Experimento 1: Avaliação do efeito da temperatura na atividade enzimática e na mudança de cor em água de coco.....</i>	<i>58</i>
1.2.3.2	<i>Experimento 2: Avaliação do efeito do uso de aditivos nas características físico-químicas, enzimáticas e de cor rosada em água de coco após processo térmico.....</i>	<i>60</i>
1.2.3.3	<i>Experimento 3: Avaliação do efeito do processamento térmico e do uso de sulfito no controle da atividade enzimática e no surgimento da cor rosada na água de coco durante 28 dias.....</i>	<i>61</i>
1.2.3.4	<i>Análise Sensorial da água de coco esterilizada por UHT.....</i>	<i>62</i>

1.2.4	<i>Análises químicas, físico-químicas, enzimáticas e cor.....</i>	63
1.2.4.1	<i>pH.....</i>	63
1.2.4.2	<i>Polifenoloxidase.....</i>	63
1.2.4.3	<i>Peroxidase.....</i>	63
1.2.4.4	<i>Cor.....</i>	64
1.2.4.5	<i>Turbidez.....</i>	64
1.2.4.6	<i>Sulfito.....</i>	64
1.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	65
1.3.1	<i>Experimento 1: Avaliação do efeito da temperatura na atividade enzimática e na mudança de cor em água de coco.....</i>	65
1.3.2	<i>Experimento 2: Avaliação do uso de aditivos nas características físico-químicas, enzimáticas e de cor rosada em água de coco após processo térmico UHT.....</i>	67
1.3.3	<i>Experimento 3: Avaliação do efeito do processamento térmico UHT e do uso de sulfito no controle da atividade enzimática e no surgimento da cor rosada na água de coco durante 28 dias.....</i>	70
1.3.4	<i>Experimento 4: Análise sensorial da água de coco processada por UHT.....</i>	76
1.4	CONCLUSÃO.....	78
	REFERÊNCIAS.....	79
	CAPÍTULO 2: EFEITO DOS PARÂMETROS DE ESTERILIZAÇÃO UHT E DO USO DE SULFITO NA QUALIDADE DA ÁGUA DE COCO PROCESSADA.....	82
	RESUMO.....	82
2.1	INTRODUÇÃO.....	83
2.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	83
2.2.1	<i>Materiais.....</i>	83
2.2.2	<i>Análises da água de coco.....</i>	84
2.2.3	<i>Delineamento Experimental.....</i>	85
2.3	RESULTADOS.....	85
2.3.1	<i>Efeito do processo UHT na água de coco após 24 h de armazenamento.....</i>	86
2.3.2	<i>Efeito do processo UHT na água de coco após 45 dias de armazenamento.....</i>	88
2.4	CONCLUSÕES.....	90

REFERÊNCIAS.....	91
CAPÍTULO 3: AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE QUÍMICA, FÍSICO-QUÍMICA, ENZIMÁTICA E DE COR DA ÁGUA DE COCO DURANTE ARMAZENAMENTO DE 180 DIAS.....	93
RESUMO.....	93
3.1 INTRODUÇÃO.....	94
3.2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	95
3.2.1 <i>Material.....</i>	95
3.2.2 <i>Preparo da amostra para estabilidade físico-química de 180 dias.....</i>	95
3.2.3 <i>Análises.....</i>	95
3.2.4 <i>Análises microbiológicas.....</i>	97
3.2.5 <i>Análise sensorial.....</i>	97
3.2.6 <i>Análise estatística.....</i>	98
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	99
3.3.1 <i>Estabilidade físico-química da água de coco durante armazenamento.....</i>	99
3.3.1.1 <i>pH.....</i>	100
3.3.1.2 <i>Sólidos Solúveis.....</i>	100
3.3.1.3 <i>Acidez Titulável.....</i>	101
3.3.1.4 <i>Sulfito residual.....</i>	102
3.3.2 <i>Estabilidade da cor e turbidez da água de coco durante armazenamento.....</i>	103
3.3.2.1 <i>Turbidez.....</i>	106
3.3.3 <i>Estabilidade enzimática da água de coco durante o armazenamento.....</i>	108
3.3.3.1 <i>Enzimas Polifenoloxidase e Peroxidase.....</i>	108
3.3.4 <i>Análise Microbiológica.....</i>	109
3.3.5 <i>Análise sensorial.....</i>	110
3.3.5.1 <i>Caracterização dos provadores.....</i>	110
3.3.5.2 <i>Aceitação sensorial da água de coco.....</i>	110
3.4 CONCLUSÃO.....	113
REFERÊNCIAS.....	114
CAPÍTULO 4: USO DE ESPECTROSCOPIA DE RMN E QUIMIOMETRIA PARA AVALIAR DIFERENTES PROCESSAMENTOS DE ÁGUA DE COCO.....	118
RESUMO.....	118
4.1 INTRODUÇÃO.....	119

4.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	120
4.2.1	<i>Preparação da amostra e processo de esterilização da água de coco.....</i>	120
4.2.2	<i>Espectroscopia de RMN e identificação molecular.....</i>	121
4.2.2.1	<i>Análise de Quantificação.....</i>	122
4.2.2.2	<i>Análises Quimiométricas.....</i>	122
4.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	122
4.3.1	<i>Identificação dos metabólitos primários.....</i>	123
4.3.2	<i>Análise quimiométrica.....</i>	125
4.4	CONCLUSÕES.....	131
	REFERÊNCIAS.....	132
	CAPÍTULO 5: AVALIAÇÃO DO EFEITO DA ESTERILIZAÇÃO UHT NA BIOACESSIBILIDADE <i>IN VITRO</i> DOS COMPOSTOS FENÓLICOS E DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE TOTAL EM SUCO MISTO DE ÁGUA DE COCO E FRUTAS TROPICAIS.....	134
	RESUMO.....	134
5.1	INTRODUÇÃO.....	135
5.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	136
5.2.1	<i>Material.....</i>	136
5.2.2	<i>Formulação do blend com água de coco e sucos tropicais mistos.....</i>	137
5.2.2.1	<i>Processamento térmico UHT e Pasteurização dos blends.....</i>	137
5.2.3	<i>Digestão Gastrointestinal simulada in vitro (Teste de Bioacessibilidade).....</i>	138
5.2.4	<i>Análises dos compostos bioativos.....</i>	139
5.2.4.1	<i>Preparação dos extratos para polifenóis extraíveis totais e atividade antioxidante total.....</i>	139
5.2.4.1.1	<i>Polifenóis extraíveis totais (PET).....</i>	139
5.2.4.2	<i>Capacidade antioxidante total (AAT).....</i>	140
5.2.5	<i>Análise estatística.....</i>	140
5.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	140
5.3.1	<i>Polifenóis extraíveis totais (PET).....</i>	141
5.3.2	<i>Atividade antioxidante total.....</i>	143
5.4	CONCLUSÕES.....	144
	REFERÊNCIAS.....	145
	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	149

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é o quarto maior produtor mundial de coco, produzindo cerca de três milhões de toneladas ano. O país contabiliza 350 milhões de litros de água de coco anualmente, frente à crescente demanda do mercado internacional, que cresce a uma taxa de 20% ao ano (FAOSTAT, 2013). Entretanto, as empresas exportadoras de água de coco, encontram dificuldades em manter sua conservação até chegar ao seu destino.

Tradicionalmente, a água de coco é comercializada na forma de fruto *in natura*, acarretando problemas relacionados ao transporte e armazenamento, dificultando principalmente a sua exportação (MATSUI *et al.*, 2008). Deve ser consumida como bebida no momento da abertura do fruto porque em contato com oxigênio, além de ficar exposta a ação de micro-organismos presentes no ambiente, podem sofrer alterações sensoriais (HASEENA *et al.*, 2010), bem como o surgimento de uma coloração rosada no decorrer do armazenamento, gerando rejeição dos consumidores.

O processo UHT (do inglês *Ultra High Temperature*), muitas vezes combinado com aditivos, é um dos métodos usualmente empregados e visa reduzir tanto a carga microbiana, quanto à atividade enzimática (PRADES *et al.*, 2012).

A esterilização associada ao uso de aditivos químicos tem sido adotada pela indústria com a intenção de aumentar a vida de prateleira do produto. O ácido ascórbico e o metabissulfito de sódio são usados freqüentemente como antioxidantes para evitar escurecimento na água de coco. De acordo com a RDC n° 08 de 06 de março de 2013, o uso do ácido ascórbico para água de coco é *quantum satis*, ou seja, pode ser utilizada uma quantidade que julgar necessária, enquanto para o metabissulfito de sódio, os limites estabelecidos são 0,005 g/100 mL (expressos em SO₂ residual) (BRASIL, 2013).

Considerando que o processamento em escala industrial requer, entre outras condições, produtividade com baixo custo e melhoria da qualidade do produto final, a esterilização apresenta-se como uma tecnologia potencialmente eficiente na obtenção de produtos de frutas.

A relevância do aprimoramento de um processo para conservação da água de coco que permita a conservação das características naturais do produto por um tempo mais prolongado está associada a diferentes fatores. Primariamente, às propriedades singulares presentes neste alimento, que o posicionam como uma bebida natural; em seguida, às características na composição, que ocasionam alterações rápidas após a abertura do fruto e,

finalmente, a inviabilidade econômica do transporte do coco inteiro por longas distâncias em virtude do peso e volume do fruto (CALVETE, 2007).

A água de coco quando esterilizada por UHT de maneira adequada, obedecendo aos valores de F_0 (Taxa de letalidade) superior a 3 minutos (MESSANO, 2011; PFLUG, ODLAUG, CHRISTENSEN, 1985), não apresentam coloração rosada, enquanto amostras subprocessadas apresentam coloração rosada que é evitada pela presença de aditivo antioxidante sulfito. O processo de esterilização UHT, quando aplicado corretamente, inibe alterações enzimáticas e de cor da água de coco verde, ocorrendo assim poucas mudanças no decorrer do tempo de armazenamento.

Sabendo-se que a água de coco é uma solução naturalmente rica em sais minerais, açúcares, vitaminas e proteínas, sugere-se aqui um estudo do processo UHT nas características químicas, enzimáticas e sensoriais da água de coco, no intuito de inativar enzimas oxidativas, evitar escurecimento, reduzir o uso de aditivos, garantir a estabilidade microbiológica e avaliar sensorialmente a água de coco produzida, aumentando assim sua vida útil.

O trabalho foi dividido em capítulos para melhor relatar a sequência de experimentos realizados e seus objetivos, relacionados à avaliação da problemática da coloração rosada que aparece na água de coco após tratamento térmico, bem como avaliar o efeito da esterilização por UHT ou uso de aditivos nas características físico-químicas, enzimáticas, de cor e sensorial da água de coco verde. No Capítulo 1 avaliou-se o efeito do processo UHT e da atividade enzimática no aparecimento da coloração rosada, e também as formas de controle devido à intensidade de processo, o uso de aditivos e a possível regeneração de enzimas. No Capítulo 2 foi aplicado um delineamento estatístico de otimização (DCCR) a fim de verificar a melhor condição para o processamento térmico da água de coco, e a partir da melhor condição de processo UHT foram planejados os experimentos dos capítulos seguintes. No Capítulo 3 foi avaliada a estabilidade físico-química, de cor e da atividade enzimática da água de coco submetida ao processo UHT em armazenamento sob temperatura ambiente durante seis meses. O Capítulo 4 discorre sobre testes complementares com uso de análise de RMN para identificar os metabólitos primários contidos na água de coco subprocessada e no tratamento por UHT. No Capítulo 5 foram desenvolvidas bebidas mistas a base de água de coco e avaliado o conteúdo bioacessível de polifenóis e da atividade antioxidante nos tratamentos *in natura*, pasteurizado e esterilizado por UHT após simulação gastrointestinal *in vitro*.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Estudar o processo de esterilização em sistema UHT com a finalidade de aumentar a vida de prateleira da água de coco verde processada, evitando mudança de coloração, além de avaliar a estabilidade do produto esterilizado com e sem a presença do aditivo antioxidante e observar o efeito do tratamento nas características físico-químicas, enzimáticas, sensoriais e de cor da água de coco.

2.2 Objetivos Específicos

Otimizar os parâmetros do processo de esterilização UHT (temperatura e tempo de retenção) e teor de aditivo antioxidante sulfito para reduzir alterações de cor após processamento de esterilização UHT de água de coco;

Estudar o efeito das condições de processo UHT (temperatura e tempo de retenção) e do uso de aditivo (sulfito) sobre a qualidade química, físico-química, sensorial e enzimática da água de coco;

Avaliar a estabilidade físico-química, de cor e enzimática da água de coco esterilizada por UHT frente ao armazenamento durante seis meses, sob temperatura ambiente, além de realizar análise sensorial e teste de esterilidade comercial;

Quantificar através de ressonância magnética nuclear (RMN) e Quimiometria, os componentes majoritários e metabólitos presentes na água de coco processada termicamente;

Avaliar o impacto da pasteurização e da esterilização UHT na bioacessibilidade dos polifenóis extraíveis totais e na atividade antioxidante total de *blend* de água de coco com suco de frutas tropicais em comparação com a água de coco e o *blend in natura*.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Água de coco

A tendência mundial por alimentos saudáveis e funcionais induz a substituição de bebidas industrializadas por sucos de frutas naturais e a água de coco que, é uma bebida refrescante e natural (DEBMANDAL; MANDAL, 2011) consumida principalmente nas regiões tropicais do mundo (BENASSI, 2006; FONSECA *et al.*, 2009; WALTER *et al.*, 2009).

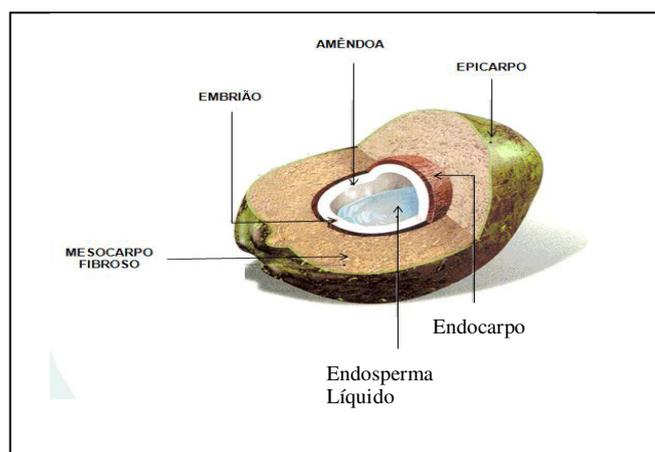
De acordo com a FAO (2013), a produção mundial de coco foi de aproximadamente 55 milhões de toneladas, principalmente nas Filipinas, Indonésia e Índia. O quarto maior produtor de coco é o Brasil (IBGE, 2012), com quase três milhões de toneladas em 2013. O aumento do consumo de água de coco nos últimos anos se deve aos benefícios à saúde e fazem da bebida um concorrente potencial a refrigerantes e bebidas isotônicas e segundo o Sindcoco, em 2012 o consumo de água de coco representou cerca de 90 milhões de litros, com consumo per capita de 0,47 L/ano.

Segundo a legislação brasileira, água de coco é a bebida obtida da parte líquida do fruto do coqueiro (*Cocos nucifera* L.), por meio de processo tecnológico adequado, não diluída e não fermentada (BRASIL, 2009).

A água de coco é uma bebida natural e uma fonte rica em açúcares, sais, vitaminas, minerais e aminoácidos, e pode ser servido diretamente como bebida para matar a sede. Ela é um líquido claro, incolor, não viscoso e levemente doce, apresentando um sabor ligeiramente ácido, com pH compreendido entre 4,2 e 6,0. É comercializado na sua forma natural, dentro do fruto (Figura 1) ou depois do processamento, no qual ela é submetida a várias etapas de esterilização e adição de conservantes (ARAGÃO *et al.*, 2002; AWUA, DOE e AGYARE, 2011; DEME *et al.*, 2013).

A formação da água de coco é uma estratégia ecofisiológica do coqueiro, no sentido de armazenar substâncias nutritivas de reservas para serem utilizadas naturalmente como mecanismo de sobrevivência da espécie, na nutrição do embrião, quando da germinação das sementes ou da plântula, durante períodos de eventuais estresses ambientais. O homem, aproveitando essa riqueza natural renovável, tem empregado a água de coco de forma crescente na alimentação e nutrição humana, na medicina como no caso de pacientes desidratados ou em atletas com exaustão física pela reposição de potássio (ARAGÃO *et al.*, 2005).

Figura 1 - Fruto do coqueiro Anão Verde entre seis e sete meses de desenvolvimento



Fonte: Silva (2013) com modificações.

A água de coco é o líquido do endosperma encontrado dentro da cavidade do coco que começa a se formar dois meses depois da abertura natural da inflorescência e atinge seu volume máximo nos frutos com idades entre 6 e 7 meses (MACIEL; OLIVEIRA; da SILVA, 1992; ARAGÃO, 2000; ARAGÃO; CRUZ; HELVÉCIO, 2001.. Corresponde a aproximadamente 25 % do peso do fruto e a quantidade de água varia de 300 a 600 mL/coco. É mais palatável cerca de seis a sete meses após a polinização e o conteúdo de sólidos totais é próximo de 5 % em peso (CTENAS; CTENAS; QUAST, 2000).

3.1.1 Composição química

A água de coco contém sais minerais, açúcares, vitaminas, fatores de crescimento, substâncias nitrogenadas e gorduras em menor quantidade, além de aminoácidos essenciais, inclusive lisina, leucina, cistina, fenilalanina, histidina, e triptofano e quantidades consideráveis de potássio. Por isso, muitos consideram a água de coco como um repositor hidroeletrólítico, que pode restaurar as perdas de água, vitaminas e minerais que ocorrem durante o esforço físico, bem como na prática do esporte (CAMPOS *et al.*, 1996; CAMPBELL-FALCK *et al.*, 2000; ABREU *et al.*, 2005; COSTA *et al.*, 2005).

As características da água de coco variam conforme o tempo de maturação (FAGUNDES NETO *et al.*, 1989), nas quais os açúcares estão entre os componentes mais importantes, que no início da maturação do fruto, estão presentes sob a forma de açúcares redutores (glicose e frutose), as concentrações que atingem níveis máximos entre o sexto e sétimo mês, período em que a quantidade de água também é maior. Com o desenvolvimento do fruto, a concentração de açúcares redutores diminui, no entanto, os açúcares não redutores

são formados (sacarose). Por isso, o sabor da água de coco também varia de acordo com o estágio de maturação do fruto (TEIXEIRA *et al.*, 2005).

Srebernich (1998) afirma que o principal ácido presente na água de coco é o ácido málico. Outros ácidos estão presentes, porém representam muito pouco na composição da água de coco. A legislação brasileira permite a adição de ácido cítrico para correção da acidez no caso da água de coco submetida a algum processo tecnológico de conservação (BRASIL, 2009).

A água de coco tem uma grande concentração de potássio. Esse mineral é o principal cátion do fluido intracelular, que ajuda na manutenção do equilíbrio hídrico normal, e, juntamente com o cálcio, é importante na regulação da atividade neuromuscular (CARVALHO *et al.*, 2006).

O conteúdo mineral da água de coco mostra modificações durante o processo de maturação do fruto. O potássio é o eletrólito mais abundante durante toda a maturação, todavia, o sódio apresenta um incremento e os outros minerais como o cálcio, magnésio, cloro, ferro e cobre apresentam-se estáveis durante o processo de maturação e o enxofre têm um aumento gradual (ARAGÃO; CRUZ; HELVECIO, 2001).

A concentração média (mg.L^{-1}) de minerais em diferentes marcas de água de coco embaladas e vendidas no mercado brasileiro foi determinada por Sousa *et al.*, (2005): cálcio (178-232), magnésio (87-129), manganês (1,8-3,8), ferro (0,08-0,18), zinco (0,2-0,36) e cobre (0,09-0,19).

Tabela 1 - Características físico-químicas da água de coco da variedade anã em diferentes estádios de maturação.

Característica	5 meses	6 meses	7 meses	8 meses	10 meses
Volume(mL)	186	223	400	200	103
pH	4,7	4,7	4,8	5,2	5,5
Acidez ¹	0,05	0,06	0,08	0,09	0,08
Sólidos Solúveis(°Brix)	5,1	6,0	6,5	7,0	5,0
Açúcares redutores ²	3,8	3,0	3,7	4,3	0,5
Ferro ³	0,03	0,04	0,07	0,06	0,06
Cálcio ³	14,0	13,0	17,0	19,0	15,0
Potássio ³	190,0	147,0	167,0	219,0	198,0
Magnésio ³	10	11,1	7,9	7,3	9
Sódio ³	6,0	10,3	6,8	11,4	35,0
Fósforo ³	3,0	6,2	3,8	5,8	7,1
Vitamina C ⁴	2,8	57,0	NE	6,6	NE

1 - em ácido cítrico g/100 mL; 2- em glicose g/100mL; 3- mg/100mL; 4- mg/100g; N.E.- não encontrado.
Fonte: Adaptado de ARAGÃO, 2002.

A ingestão de água de coco pode ter dentre outras funções, a de reidratação após o exercício físico. Segundo alguns estudos a água de coco, além de reidratante, apresenta algumas vantagens em relação às bebidas à base de carboidratos e eletrólitos, sendo suficientemente adocicada, não causa náusea, não apresenta sensação de abundância ou desordem no estômago, além de ser facilmente consumida em grande quantidade (CARVALHO *et. al.*, 2006; KALMAN *et al.*, 2012).

Devido a sua composição rica em sais, a água de coco é considerada como uma bebida hipertônica, com uma osmolalidade de 402 a 419 mOsm/kg água, diferente do plasma sanguíneo humano, de 285 a 295 mOsm/kg água (VIGLIAR, SDEPANIAN; FAGUNDES-NETO, 2006; SILVA, 2002; CONSTANZO, 2011). Segundo BRASIL (2010), as bebidas com osmolalidade entre 270 e 330 podem ser consideradas isotônicas.

Apesar da alta concentração de açúcares e potássio presentes na água de coco, existe uma controvérsia sobre o seu uso para reidratação oral. A adequação de água de coco para administração intravenosa e hidratação oral tem sido também relatada. Como um fluido intravenoso, Anzaldo *et al.* (1980) utilizaram 500 a 700 mL de água de coco em nove voluntários humanos e não detectaram qualquer alteração significativa na composição eletrolítica do sangue ou na pressão arterial, pulsação ou respiração. Mas, como afirmaram Campbell- Falk *et al.* (2000), a água de coco não parece ser uma solução ideal para a reidratação a longo prazo, mas pode servir como uma alternativa temporária emergencial.

Fonseca *et al.* (2009) estudaram os constituintes de duas variedades de coco (verde e amarelo) e constataram a presença de álcoois, cetonas, tióis, ácidos carboxílicos, fenóis, e ésteres que são, provavelmente, responsáveis, em parte, pelo aroma da água de coco. Além disso, eles verificaram que o éster etanoato de n-propilo estava presente em ambos os processos de extração, e provavelmente é um dos compostos responsáveis pelo sabor da água de coco.

Os níveis de açúcares totais, sólidos totais e acidez total aumentam até o sexto mês de desenvolvimento e depois diminuem enquanto a concentração de lipídios e proteínas aumenta até o estágio final de desenvolvimento. Portanto, as diferenças encontradas na composição da água de coco podem ser devido à variedade do coco, o seu estágio de desenvolvimento, práticas de cultivo, bem como condições de transporte e armazenamento (MURASAKI-ALIBERTI *et al.*, 2009).

Mesmo que a água de coco seja extraída de forma asséptica, a sua exposição ao ar inicia algumas reações, como a oxidação promovida por enzimas polifenoloxidase (PPO) e peroxidase (POD), que estão naturalmente presentes na água de coco (DUARTE; COELHO;

LEITE, 2002). Também a água de coco é rica em minerais e eletrólitos (JACKSON *et al.*, 2004; REDDY; DAS; DAS, 2007), que catalisam a oxidação de lipídeos e formação de compostos voláteis. Estas reações têm um efeito negativo sobre a qualidade sensorial e nutricional da água de coco (CAMPOS *et al.*, 1996).

3.2 Enzimas oxidativas: polifenoloxidase e peroxidase

Enzimas são proteínas que catalisam com grande eficiência as reações metabólicas em determinadas condições de pH, temperatura, meio iônico, entre outros (WHITAKER, 1994).

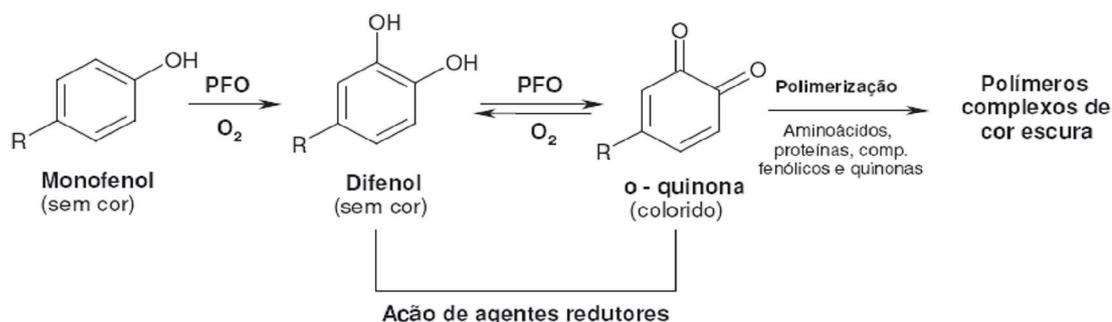
Há dois grupos de enzimas responsáveis pela deterioração da água de coco, a polifenoloxidase (PPO) e a peroxidase (POD) (ARAGÃO, 2002).

As PPOs são enzimas capazes de oxidar compostos fenólicos com auxílio do oxigênio molecular. Existem dois tipos de PPO: as o-difenol oxidases chamadas de catecol-oxidase, tirosinases ou fenolases, e as p-difenol-oxidases, denominadas lacases (ALENCAR; KOBLITZ, 2008). A presença da PPO se faz tanto na forma solúvel quanto na forma ionicamente ligada à membrana nas plantas, localizando-se principalmente nos plastídeos e cloroplastos das células intactas (CONCELLÓN *et al.*, 2004).

O resultado final das reações catalisadas por essas enzimas são quinonas, substâncias altamente reativas e combinam-se entre si e outros componentes do meio para gerar produtos de condensação de alta massa molecular e cor escura (PENHA *et al.*, 2005). Este processo é chamado de escurecimento enzimático que em muitos casos, é indesejável por alterar o sabor, o odor e o valor nutricional. Nas frutas o teor de PPO aumenta com a maturação e a senescência (ALENCAR; KOBLITZ, 2008).

A polifenoloxidase (PPO), presente em muitas frutas e hortaliças, tem sido bastante reconhecida por ser uma das enzimas responsáveis pelos problemas de escurecimento em alimentos durante o manuseio pós-colheita e a industrialização. A PPO catalisa a oxidação de compostos fenólicos em pigmentos de cor escura (WHITAKER, 1994, SUKHONTHARA; KAEWKA; THEERAKULKAIT, 2016). As etapas deste mecanismo estão representadas, resumidamente, na Figura 2.

Figura 2- Reação de escurecimento enzimático a partir da polifenoloxidase (PPO).



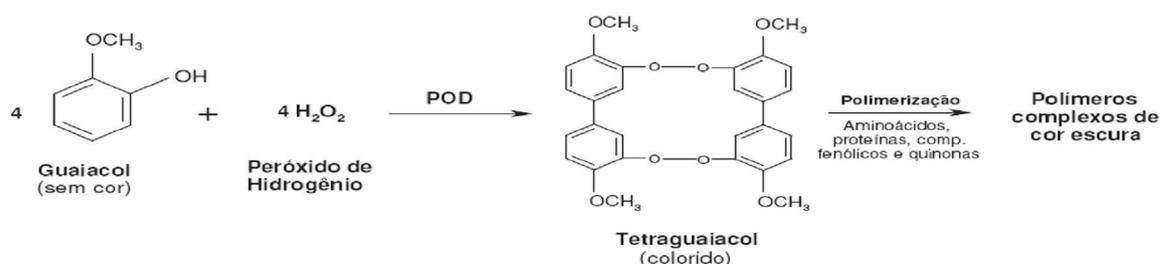
Fonte: Adaptado de Walker (1995) e Sapers (1993).

A reação de escurecimento prossegue através de oxidações não enzimáticas ocorrendo, finalmente, a polimerização das quinonas a pigmentos de coloração escura. Quimicamente são polímeros amorfos, insolúveis e altamente estáveis que podem interagir com outros constituintes do meio, particularmente as proteínas, formando complexos coloridos (RAMÍREZ; WHITAKER; VIRADOR, 2003; YORUK e MARSHALL, 2003; GAO, HAN, XIAO, 2009).

A enzima peroxidase (POD) está largamente presente nos reinos animal e vegetal, na forma de hemoproteína e utiliza o peróxido de hidrogênio como substrato oxidante, apesar de já ter sido revelada a presença de peroxidase contendo íons metálicos, tais como ferro, selênio e vanádio ou o grupo prostético flavina, atuando como cofatores (MU, HE, WANG, 2016, ROBINSON, 1991; VÁMOS-VIGYÁZÓ, 1981).

A Figura 3 representa o mecanismo de escurecimento enzimático da POD, utilizando como doador de hidrogênio o guaiacol, bastante utilizado nos métodos de detecção da atividade dessa enzima (FATIBELLO-FILHO; VIEIRA, 2002).

Figura 3- Mecanismo de escurecimento enzimático a partir da peroxidase (POD).



Fonte: Adaptado de Fatibello-Filho e Vieira (2002).

As PODs possuem termorresistência e possibilidade de sofrer regeneração da sua atividade após certo tempo de processamento, sendo este tempo um fator importante na inativação destas enzimas (CALVETE, 2007). Os fatores externos que governam a inativação térmica da POD, em um determinado pH, são o tempo e a temperatura de tratamento.

A peroxidase pode participar da inativação da vitamina C, catalisar a descoloração dos carotenoides na ausência de ácidos graxos insaturados e da descoloração de antocianinas, podendo também catalisar a reação de degradação de ácidos graxos insaturados, produzindo elementos voláteis que alteram o sabor e o aroma (WHITAKER, 1994).

Pode ocorrer descoloração da água de coco processada, após várias semanas de armazenamento. Embora os mecanismos de atividade da PPO e da POD estejam bem descritos a partir de um ponto de vista bioquímico (FOX, 1991), os mecanismos enzimáticos continuam durante amadurecimento do fruto e na pós-colheita. Diferentes fatores afetam os níveis de atividades das enzimas e são muitas vezes difíceis de controlar (temperatura, pH, impactos mecânicos, e concentração de oxigênio). Para evitar as alterações causadas pela atividade da PPO e da POD em água de coco, vários autores sugeriram inativar as enzimas por tratamento térmico utilizando métodos convencionais (pasteurização ou esterilização) (PRADES *et al.*, 2012).

Investigações sobre a cinética de inativação das duas enzimas (PPO e POD) demonstraram que a reação é complexa (KIKUDA; TADINI FERNADES, 2002; MURASAKI-ALIBERTI *et al.*, 2009) mostrando que duas isoenzimas para PPO e POD estão presentes na água de coco jovem. De acordo com Robinson (1991), quanto maior for a estabilidade das isoperoxidasas frente à temperatura, menos linear é a curva de inativação térmica.

Duarte, Coelho e Leite (2002) estudaram a determinação da atividade enzimática da peroxidase e polifenoloxidase presentes na água de coco verde e caracterizaram essas enzimas por cromatografia líquida de proteína rápida (FPLC) e eletroforese. Os autores obtiveram uma atividade de 0,3 UAE.mL⁻¹ para a PPO e 5,0 UAE.mL⁻¹ para a POD.

Campos *et al.* (1996) identificaram atividade máxima da PPO e POD em água de cocos verdes de 32,1 e 114,3 UAE.mL⁻¹ em temperaturas de 25 e 35 °C, respectivamente. Os autores concluíram que a água de coco apresentou pH favorável para a atividade de ambas as enzimas e observaram ainda que o tratamento térmico para inativação dessas enzimas somente tornou-se eficiente na temperatura de 90° C com uma completa inativação no tempo de exposição de 550 e 310 segundos para PPO e POD, respectivamente. No entanto, a partir de 100 segundos de exposição do produto a esta temperatura, já ocorrem problemas sensoriais

relacionados a mudanças no aroma e sabor da água para esta temperatura. Destaca-se nesse estudo, que a PPO apresentou-se mais termorresistente do que a POD.

Murasaki, Silva e Tadini (2004) estudaram a inativação térmica da POD e PPO presentes na água de coco verde por processo térmico descontínuo. Os autores sugeriram que, no mínimo, duas isoenzimas da POD e da PPO, estão presentes com diferentes termoestabilidades, confirmando o resultado encontrado por Balasubramanian e Boopathy (2013) ao identificar e purificar duas isoenzimas da peroxidase (TCW₁ e TCW₂), com atividade de 3,5 e 3,2 UAE. mL⁻¹, respectivamente.

Fontan *et al.* (2012) estudaram a cinética de inativação térmica da enzima peroxidase (POD) presente na água de coco verde, determinando os valores dos parâmetros *D*, *z* e *Q10*. Foram avaliados nove binômios tempo/temperatura para o tratamento térmico em três temperaturas (75°C, 85°C e 95°C) e tempos de manutenção variando de 1 a 30 minutos. Eles observaram valores *D* de 833,3 e 1,63 minutos nas temperaturas de 75 °C e 95 °C, respectivamente, demonstrando que a POD da água de coco é resistente à inativação térmica, sendo tal processo fortemente afetado pela temperatura utilizada.

Tan *et al.* (2014) avaliaram a atividade enzimática da PPO e POD da água de coco em três diferentes estádios de maturação; verde, maduro e muito maduro e verificaram que estas enzimas mostraram menor resistência térmica na água do coco muito maduro. Os autores sugerem que essa diferença se deve ao conteúdo de açúcares, sal e pH das águas de coco estudadas.

Kwiatkowski, Oliveira e Clemente (2012) analisaram as atividades da peroxidase (POD) e polifenoloxidase (PPO) de água de coco, cv. Anão Verde colhidos em diferentes estádios de desenvolvimento e de diferentes estações do ano e observaram que as atividades das enzimas PPO e POD da água de coco aumentam com o aumento do tempo de desenvolvimento dos frutos e os maiores valores desta atividade são observados na estação de inverno.

O tratamento térmico apresenta-se como um método eficiente para o controle do escurecimento devido à inativação da PPO, entretanto, o aquecimento dos tecidos vegetais normalmente resulta em perdas sensoriais e nutricionais ao alimento prejudicando significativamente aqueles produtos em que a PPO apresenta elevada termoestabilidade (MENDONÇA; GUERRA, 2003; RAPEANU *et al.*, 2005).

3.3 Alterações de cor e escurecimento na água de coco

Os principais grupos de reações que conduzem ao escurecimento em alguns alimentos e na água de coco são a oxidação enzimática dos fenóis e o escurecimento não enzimático. O escurecimento não enzimático em alguns casos é favorecido pelos tratamentos com o calor e inclui uma ampla variedade de reações, tais como reação de Maillard, caramelização e oxidação química dos fenóis (HAMINIUK *et al.*, 2005).

A Reação de Maillard (RM) ocorre durante o processamento térmico e/ou armazenamento prolongado de alimentos que contêm proteínas e açúcares redutores. A RM inicia-se com o ataque nucleofílico do grupo α -carbonílico de um açúcar redutor, por exemplo, ao grupamento amina de proteínas (FINOT, 2005; NUNES, BATISTA, 2001).

A ocorrência da reação em alimentos depende de vários fatores: temperaturas elevadas (acima de 40°C), atividade de água na faixa de 0,4 a 0,7, pH na faixa de 6 a 8 (preferencialmente alcalino), umidade relativa de 30% a 70%, presença de íons metálicos de transição como Cu^{2+} e Fe^{2+} , que podem catalisar a reação (KWAK; LIM, 2004; HODGE, 1953). Além desses fatores, a composição do alimento também influencia na ocorrência da RM.

Compostos representativos dessa reação, encontrados em alimentos e em sistemas biológicos são: carboximetilisina, hidroximetilfurfural, pentosidina, carboxietilisina, pirralina, vesperlisina A, dímero metilglioxal-lisina, glicosepana (BARBOSA; OLIVEIRA; SEARA, 2009).

As modificações que ocorrem na água de coco são consequência da presença, naturalmente ou por contaminação durante sua extração, processamento ou na hora do envase, podendo surgir contaminação por micro-organismos deteriorantes e alterações por ações de enzimas em contato com o ar, o que incorre em período muito curto de manutenção da qualidade entre a retirada da água do fruto e o seu consumo.

Após a abertura do fruto, a água de coco pode sofrer várias alterações de origem química ou microbiológica, sendo bastante frequente o aparecimento de uma cor rosa que pode ocorrer após horas ou dias, dependendo do tipo e intensidade do tratamento realizado (CALVETTE, 2007). Satin (2000) cita este fato como sendo o aparecimento de `uma bela cor rosa`. Para as grandes indústrias este fato é responsável por perdas consideráveis do produto processado e dificuldades para a manutenção da qualidade. É possível observar várias outras alterações após a extração da água de coco do fruto, porém são raros os dados ou estudos divulgados na literatura científica sobre as causas destas modificações. Também não se sabe

se seria enzimático e qual enzima seria responsável pela formação desta coloração e se o diferencial seria o substrato fenólico da água de coco, ou ainda, se o escurecimento seria não enzimático (DAVID E FERNANDES, 1998; CURSINO *et al.*, 1996; CABRAL, 2002).

Exete e Hsueh (1998) detectaram escurecimento não enzimático (ENE) durante a esterilização de água de coco verde. Os compostos de sulfito, acetilcisteína, glutatona e cisteína inibiram o ENE efetivamente. A adição de carbono ativado absorveu a cor completamente e baixou o nível de ENE bem como a adição de resinas de troca catiônica que removeram íons metálicos e aminoácidos e decresceu o grau de ENE.

Os sulfitos são amplamente utilizados para evitar o escurecimento, tanto enzimáticos ou não-enzimáticos. Eles são utilizados como antioxidantes ou agentes redutores (RIBEIRA *et al.*, 2001).

Além da preocupação com as características sensoriais do alimento produzido, a indústria alimentícia visa à produção de alimentos estáveis e seguros para o consumidor, que tenham uma longa vida de prateleira. Uma das técnicas utilizadas é a adição de conservantes em seu processo de beneficiamento, como por exemplo, os sulfitos. Estes são agentes multifuncionais, com capacidade de prevenir em alimentos o escurecimento enzimático e não enzimático, controlar o desenvolvimento microbiológico, atuar como agente branqueador, antioxidante ou redutor (EDMOND, MAGEE, CUMMINGS, 2003; POPOLIM, 2004). Devido a essas múltiplas funções, os sulfitos são usados em vários produtos como frutas desidratadas, vinhos, sucos industrializados (PIZZOFERRATO *et al.*, 1998; MACHADO; TOLEDO, 2006), bebidas carbonatadas, que contenham suco de fruta (PEREIRA; FARIA; PINTO, 2013), biscoitos, geleias, frutas e legumes frescos.

3.4 Industrialização e Métodos de Conservação

Vários métodos de preservação vêm sendo estudados, como esterilização térmica, filtração, pasteurização, concentração pela adição de açúcar, micro-ondas, concentração por osmose inversa, uso de aditivos, altas pressões, microfiltração, carbonatação e várias combinações de métodos para preservação (DEL ROSÁRIO *et al.*, 1986; MAGDA, 1992; MATSUI *et al.*, 2008).

Justifica-se o desenvolvimento de técnicas de processamento que permitam viabilizar a sua comercialização para locais distantes de sua origem, proporcionando melhor conservação e menor exigência de espaço para o transporte, além da obtenção de um produto que preserve ao máximo suas características naturais. Em qualquer forma de conservação

deve-se otimizar o tempo de processamento e minimizar a exposição ao ar atmosférico (ROSA; ABREU, 2000; MAGALHÃES *et al.*, 2005; MARQUES; GALLI, 2007; DEBIEN, 2010).

O acesso à água de coco *in natura* não é possível ou não é tão fácil em qualquer lugar e a qualquer momento. Este fato aliado ao aumento de seu consumo no Brasil e em outros países torna interessante que se desenvolvam métodos para industrialização e conservação da água de coco extraída do seu fruto.

Os métodos de conservação têm como função a inibição da ação enzimática e a garantia da estabilidade microbiológica da água após abertura do fruto, além de manter, o máximo possível, suas características sensoriais originais (ROSA; ABREU, 2000; ARAGÃO; CRUZ; HELVECIO, 2001), podendo fazer uso de tratamento térmico com medias e altas temperaturas, uso de aditivos químicos pertencentes ou não a categorias dos conservadores, refrigeração ou congelamento (ROSA; ABREU, 2002).

A água de coco verde pode ser consumida tanto no fruto quanto processada, sendo que sua vida útil dependerá dos métodos de conservação aplicados. Tais métodos visam inibir a ação enzimática e garantir a estabilidade microbiológica da água de coco após a abertura do fruto, pois é uma bebida perecível e, devido à sua própria composição e ao seu pH favorável, constitui um meio propício para o desenvolvimento de micro-organismos (AWUA, DOE e AGYARE, 2011).

As inovações tecnológicas no setor de alimentos têm evoluído bastante nas últimas décadas e, dentre elas, destacam-se os sistemas de processamento e acondicionamento assépticos. Em geral, os sistemas assépticos envolvem as etapas de esterilização do material de embalagem; esterilização comercial do produto; acondicionamento do produto assepticamente; fechamento e manutenção da integridade da embalagem. Vale salientar que o consumidor de água de coco em embalagem cartonada tem o hábito de consumir o produto no interior da embalagem, não observando assim quando ocorrem alterações, principalmente de cor.

Em função do tipo de processamento utilizado, podem ser obtidos os seguintes produtos: água de coco resfriada, água de coco congelada, água de coco pasteurizada e congelada, água de coco esterilizada e envasada assepticamente, água de coco concentrada, água de coco desidratada e água de coco reconstituída (BRASIL, 2009; PENHA *et al.*, 2005).

A legislação brasileira, através da Instrução Normativa nº 27/2009 (BRASIL, 2009), alterados pela IN 31/2009 (BRASIL, 2009), descreve os Padrões de Identidade e

Qualidade para água de coco, indicando as características que devem ser atendidas, de acordo com o processo de conservação (Tabela 2).

A água envasada e congelada destaca-se como outra forma de conservação muito utilizada. Segundo Rosa e Abreu (2002), o congelamento pode ser realizado de diversas formas, de acordo com as escalas de produção, embora deva ser realizado no menor período possível para preservar as características originais do produto.

A água de coco envasada refrigerada pode ser obtida com ou sem o uso de aditivos químicos. No método que utiliza somente a extração e o resfriamento, a vida de prateleira do produto é de apenas três dias. No método que utiliza a pasteurização associada ao uso de aditivos juntamente com a refrigeração, a vida de prateleira do produto pode se estender por até seis meses dependendo do método empregado (ROSA; ABREU, 2000). Nos tratamentos de UHT associados ao uso de aditivo, a água de coco mantida em embalagens cartonadas tem prazo de validade de 10 meses a 12 meses.

Tabela 2 - Padrões de Identidade e Qualidade (PIQs) para água de coco esterilizada (IN 27/2009).

	pH	Sólidos solúveis em Brix, a 20°C	Potássio em mg/100 ml	Sódio em mg/100 ml
Água de coco esterilizada:..... <i>mínimo</i> :	4,60	-	140,00	2,00
..... <i>máximo</i> :	5,40	6,70	230,00	30,00

A aplicação de tratamentos auxiliares permite estender a vida de prateleira do produto para até seis meses. A água de coco refrigerada é comercializada em garrafinhas plásticas do tipo `PET_ (polietileno-tereftalato), podendo-se ainda observar o uso de copinhos com tampa termossoldável ou garrafinhas de polietileno de baixa densidade (PEBD). A temperatura de armazenamento deverá ser mantida em torno de 5 a 8°C (ARAGÃO *et al.*, 2002).

Pereira, Faria e Pinto (2013) avaliaram o uso de aditivos, testando a eficiência de diferentes concentrações dos conservantes sorbato de potássio e metabissulfito de sódio nas características físico-químicas e microbiológicas da água de coco. Os autores constataram que as concentrações de 375 mg.L⁻¹ de sorbato de potássio e 75 mg.L⁻¹ de metabissulfito de sódio apresentaram os melhores atributos de qualidade da água.

Dosualdo (2007) avaliou a influência das altas pressões nas atividades enzimáticas de peroxidase e polifenoloxidase e na destruição da bactéria *Lactobacillus fructivorans* e da levedura *Saccaromyces cerevisiae*. Os tratamentos realizados não causaram inativação satisfatória das enzimas presentes na água de coco, porém há evidências de que o tratamento pode ser eficaz se for efetuado em pressões mais elevadas. De maneira geral, a peroxidase apresentou maior resistência ao tratamento do que a polifenoloxidase. O tratamento mostrou-se eficaz na eliminação de contaminação microbiológica do produto, mostrando que a água de coco tratada pelo método de altas pressões pelo método de homogeneização apresentou boa estabilidade microbiológica, mas não exibiu boa estabilidade química, ficando sujeita a alterações devido a reações catalisadas por estas enzimas.

Purkayastha *et al.* (2012) processaram água de coco através do sistema de microfiltração com e sem adição de ácido L-ascórbico (25 mg/100 mL), armazenada a 4 °C, durante 28 dias. Os autores analisaram as alterações físico-químicas, sensoriais e microbiológicas. Com o aumento no tempo de armazenamento, foi observada a diminuição dos valores nutricionais e das características sensoriais das amostras. O ácido ascórbico adicionado atrasou a diminuição da claridade (% de transmitância), reduziu as qualidades sensoriais, e também diminuiu o aumento da redução de açúcar e ácidos graxos totais. O prazo de validade das amostras de água de coco microfiltrada se limitou até quatro semanas (4°C).

Costa *et al.* (2005) compararam a água de coco obtida pelo processo *Hot Fill* em laboratório com outras águas-de-coco comercializadas, submetidas a diferentes métodos de conservação (resfriamento, congelamento, enchimento asséptico e *Hot-Fill*) mediante análises: físico-químicas e sensoriais e concluíram que a água de coco processada por *Hot Fill* experimental apresentou qualidade microbiológica satisfatória e boa aceitação sensorial pelos provadores, concluindo-se que a associação do tempo, temperatura e aditivos químicos empregados no processo *Hot Fill* experimental foram adequados para obtenção da água de coco com potencial para o mercado e apresentou a maior intenção de compra em relação aos produtos comerciais empregados para comparação.

3.4.1 Conservação UHT

A esterilização comercial de líquidos para sistemas assépticos é caracterizada pela utilização de processos que preservam ao máximo as características naturais do produto, ou utilizando altas temperaturas por um curto espaço de tempo (HTST e UHT) ou sem

aquecimento, como ocorre nos métodos não convencionais como pulso elétrico, alta-pressão e membranas (BUCHNER, 1993; CHEN; GRANDISON; LEWIS, 2015). Entretanto, os métodos térmicos de pasteurização e esterilização ainda são os mais utilizados, testados e seguros.

Os processos utilizados para industrialização da água de coco incluem a esterilização tradicional ou ultra high temperature (UHT) e a pasteurização, que deve ser invariavelmente acompanhada de refrigeração e/ou combinada com o uso de aditivos e conservantes (ABREU, 2005). Por estar classificada como alimento pouco ácido, a esterilização é o processo que permite a comercialização da bebida sem refrigeração, porém resulta em maiores e mais drásticas consequências aos atributos nutricionais e sensoriais. Processos convencionais utilizados em grande escala pela indústria de alimentos possuem a desvantagem de também inativar e/ou destruir componentes benéficos presentes nos alimentos em consequência, principalmente, do emprego do calor (FELLOWS, 2006).

Para atingir a esterilidade comercial de alimentos de baixa acidez ($\text{pH} > 4,5$), como o leite ($\text{pH} > 6,0$) e água de coco ($\text{pH} > 5,0$), é necessário um tratamento térmico mais intenso, ou seja, a esterilização. Os processos de esterilização que utilizam ultra alta temperatura (UAT) tornaram-se tradicionais no tratamento de leite fluido, cujos binômios variam de 135 a 150°C entre 1 e 10 segundos, tornando o produto comercialmente estéril com poucas alterações físico-químicas e sensoriais. Estes tratamentos eliminam micro-organismos deteriorantes e patogênicos, sendo o *Clostridium botulinum* o micro-organismo alvo desse tipo de tratamento térmico em alimentos de baixa acidez ($\text{pH} > 4,5$) (DRYER; DEIBEL, 1992; BUCHNER, 1993).

A obtenção do melhor binômio tempo-temperatura é o ponto fundamental para a otimização do método de esterilização, de forma que garanta segurança microbiológica e redução da atividade enzimática sem alterações sensoriais e nutricionais do produto (MURASAKI-ALIBERTI *et al.*, 2009; ROSA; ABREU, 2000).

Segundo Brasil (2009), água de coco esterilizada é a bebida obtida da parte líquida do fruto do coqueiro (*Cocos nucifera* L.), não diluído e não fermentado e que foi submetido a um processo adequado de esterilização `comercial`.

Teixeira, Teixeira e Souza (2005) afirmaram que a água de coco submetida a um sistema de esterilização comercial UHT (Ultra High Temperature), segue processo de aquecimento iniciando na temperatura ambiente, eleva-se sua temperatura a 135°C por quatro segundos e resfria-se em seguida a 25°C, adquirindo a condição de esterilidade comercial.

Grande parte da água de coco verde disponível no mercado é industrialmente submetida ao processo térmico *Ultra High Temperature*, combinada à adição de conservantes químicos e posteriormente embalada assepticamente, de modo a reduzir a carga microbiológica para valores seguros ao consumo, evitar a coloração rosada, que ainda é um desafio para pesquisadores e para a indústria, e outras alterações indesejáveis durante a vida de prateleira. Nesse processo, a água de coco atinge temperaturas próximas a 140 °C garantindo a condição de esterilidade comercial, o que permite a sua estocagem à temperatura ambiente. Apesar do tempo de processo ser de apenas poucos segundos, a elevada temperatura e os aditivos promovem alterações significativas nas características sensoriais do produto (ROSA; ABREU, 2000).

Abreu e Faria (2007) avaliaram a estabilidade físico-química da água de coco quando processada termicamente entre 138 e 144 °C por 10 segundos, com adição de ácido ascórbico nas concentrações de 0, 100 e 200 mg.L⁻¹. Foram processados cinco lotes de água de coco em pequena escala, fazendo-se a avaliação de sua estabilidade por três meses. O tratamento térmico a 139 °C/10 segundos e o uso de 200 mg.L⁻¹ de ácido ascórbico foram consideradas as melhores condições de processo para manter a estabilidade físico-química da água de coco esterilizada e acondicionada assepticamente, enquanto a água de coco que não continha o ácido ascórbico apresentou uma coloração rosada imediatamente após a saída do trocador de calor.

3.5 Análise Sensorial

A análise sensorial consiste em evocar, medir, analisar e interpretar reações das características dos alimentos que são percebidas pelo sentido da visão, olfato, sabor e audição (DUTCOSKY, 2007). Os métodos sensoriais são aqueles que possibilitam uma avaliação da impressão do indivíduo sobre a condição do produto e de sua qualidade (CHITARRA; CHITARRA, 2005). O sabor é uma resposta integrada às sensações do gosto e do aroma. O gosto é atribuído aos compostos não-voláteis presentes nos alimentos, tais como açúcares, sais, limoneno e ácidos, que conferem os gostos básicos conhecidos como doce, salgado, amargo e ácido. O aroma é a resposta da presença de substâncias voláteis (FRANCO; JANZANTTI, 2004).

De acordo com Stone e Sidel (1985), os métodos descritivos, tais como Perfil de Sabor, Perfil de Textura e Análise Descritiva Quantitativa são de grande utilidade na solução

de diversos problemas associados ao controle de qualidade, estudos de vida-de-prateleira, desenvolvimento de novos produtos ou a interpretação das preferências dos consumidores.

Abreu *et al.* (2005) determinaram o perfil sensorial de amostras comerciais de água de coco obtidas por diferentes processamentos (pasteurização, esterilização UHT e congelamento), utilizando a metodologia de análise descritiva quantitativa e teste de aceitação. Dentre os resultados da análise descritiva quantitativa foram encontrados termos como coloração encardida e aroma de água tônica para a água de coco pasteurizada, aroma pútrido e sabor de coco passado para a água de coco esterilizada e sabor e aroma de ferrugem para a água de coco congelada. Essas características foram atribuídas tanto aos métodos de extração e de conservação, quanto ao tempo de maturação dos frutos utilizados.

Costa *et al.* (2005) verificaram a aceitação sensorial de água de coco obtida por quatro diferentes métodos de conservação (refrigeração, congelamento, enchimento asséptico e *hot fill*). Comparando os valores médios para aceitação global, aparência, sabor e intenção de compra, foi observado que a água de coco conservada pelo processo *hot fill* experimental, que é o envase a quente da água de coco, apresentou as maiores médias para todos os atributos avaliados.

Silva *et al.* (2003) avaliaram a estabilidade sensorial da água de coco submetida ao processamento tipo *Hot Pack* onde a água de coco foi padronizada, envasada em garrafas de vidro, foi submetida a um tratamento térmico a uma temperatura de 100°C por 10 minutos, e em seguida foi resfriada e armazenada à temperatura ambiente. Os autores verificaram valores da faixa de aceitação da escala, entre 6 e 9, que totalizaram 78,3% para 30 dias e 47% para 120 dias, mostrando uma boa aceitação até 90 dias e uma aceitação razoável para o final do armazenamento.

3.6 Ressonância Magnética Nuclear (RMN) e Quimiometria

Tradicionalmente, a espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) havia sido compreendida apenas como uma ferramenta para a verificação de estruturas e para analisar a pureza de substâncias (SPRAUL *et al.*, 2009), mas o interesse principal dos químicos orgânicos é a elucidação estrutural de moléculas complexas, para isso a RMN é uma ferramenta indispensável, contudo, o seu uso como técnica analítica expandiu-se apenas nos últimos 20 anos (NASCIMENTO, 2011)

A velocidade com que os espectros podem ser obtidos possibilita examinar várias amostras em pouco tempo, muitas vezes com a mínima preparação da amostra e com

excelente reprodutibilidade da técnica. Além de ser uma técnica não destrutiva, a RMN pode detectar um grande número de compostos simultaneamente em uma única medida experimental (SPRAUL *et al.*, 2009; NORD *et al.*, 2004).

Trabalhos envolvendo a utilização da RMN de ¹H na qual se consegue discriminar, a partir de espectros de RMN de ¹H e utilizando-se quimiometria e diferentes tratamentos estatísticos dos dados, sucos produzidos a partir de laranja, água de coco tem sido relatado na literatura (CUNY *et al.*, 2007; PURKAYASTHA *et al.*, 2012).

A quantificação dos ácidos málicos, cítricos e aspártico em sucos de: laranja, maçã, kiwi, pêra, morango e abacaxi, e em pH específicos onde não ocorre sobreposição dos sinais desse compostos, também tem sido motivo de investigação (CAMPO *et al.*, 2006). Possíveis produtos de adulteração e/ou contaminação têm sido detectados utilizando-se técnicas de RMN e algumas vezes em conjunto com outras técnicas. Por exemplo, a adulteração em concentrados de suco de laranja com a adição da água de lavagem dos frutos pode ser detectada no espectro de RMN de ¹H e quimiometria através da substância dimetilprolina (DMP) (LE GALL *et al.*, 2001).

A água de coco é uma matriz muito complexa e a sua composição pode variar em função dos fatores de sazonalidade e regionalidade, dos processos de produção, das condições de armazenamento e estocagem. Um método que pode ser empregado na análise dos diferentes produtos comerciais é a RMN de ¹H, tornando possível em uma única medida a observação de todas as substâncias presentes; levando-se em conta a possibilidade de sobreposição dos sinais. No entanto, frente a um número muito grande de espectros, tanto pelo número de replicatas como pelo número de amostras, a comparação visual para a sua discriminação torna-se bastante trabalhosa devido ao elevado número de informações neles contidos. O uso de programas estatísticos nos permite distinguir com clareza as sutilezas tanto em relação à variação dos constituintes químicos quanto à sua quantidade (DEFERNEZ; COLQUHOUN, 2003).

A quimiometria é constituída de métodos matemáticos e estatísticos que decompõem dados multivariados complexos em dados simples e de mais fácil interpretação, isso permite uma melhor compreensão das informações presentes em um banco de dados (PEDERSEN, 2002). Em vista do grande número de dados gerados para cada amostra, foram adotados os métodos quimiométricos de análise exploratória e a calibração multivariada para tratamento desses dados.

A análise exploratória é utilizada primeiramente para fazer uma avaliação inicial dos dados e revelar quais amostras são semelhantes ou diferentes entre si através da visualização

de agrupamentos (NASCIMENTO, 2011), enquanto que, a principal tarefa da calibração multivariada é estabelecer uma relação entre os espectros e os parâmetros de referência para todas os tratamentos em um determinado conjunto de dados. Dentre as diferentes técnicas quimiométricas exploratórias e de calibração multivariada descritas na literatura a Análise de Componentes Principais que foi utilizada nessa pesquisa.

3.7 Bioacessibilidade

Compostos bioativos estão presentes na dieta habitual do ser humano. Há evidências de que eles apresentam papéis na redução do risco de doenças crônicas não-transmissíveis, como o câncer e as doenças cardiovasculares. Entretanto os efeitos dos compostos bioativos na saúde dependem das quantidades consumidas e da biodisponibilidade desses compostos.

A quantidade de compostos bioativos presente nos alimentos não reflete necessariamente o teor absorvido e metabolizado pelo organismo. Assim, são necessárias a identificação e utilização de biomarcadores de exposição apropriados para o melhor entendimento dos principais processos individuais de biodisponibilidade desses compostos e de seus metabólitos. O entendimento dos fatores que levam à liberação dos compostos da matriz do alimento, a extensão da absorção e o seu papel real no organismo são cruciais para determinação dos seus mecanismos de ação e da sua influência na promoção e manutenção da saúde humana.

Os compostos fenólicos têm absorção variável, pois os polifenóis apresentam uma considerável diversidade estrutural, que influencia em sua biodisponibilidade. Ácidos fenólicos são facilmente absorvidos pelo intestino. Entretanto alguns flavonóides que apresentam alto peso molecular, como as proantocianidinas, são pouco absorvidos.

As formas agliconas (livres de açúcar) podem ser diretamente absorvidas pelo intestino delgado. Entretanto muitos polifenóis estão presentes em alimentos na forma de ésteres e glicosídeos ou, ainda, polímeros que não podem ser absorvidos em sua forma nativa. Essas substâncias podem ser hidrolisadas por enzimas intestinais ou pela microflora colônica antes de serem absorvidas (SANTOS-BUELGA; SCALBERT, 2000)

Existem diversos fatores que influenciam a biodisponibilidade dos compostos químicos, uns que estão relacionados com o composto em si, e que englobam a sua estrutura química ou o seu grau de ionização, e outros que não estão diretamente relacionados com o composto em si, mas sim com fatores como, a complexidade da matriz do alimento onde o

composto se insere, o tipo e quantidade dos outros compostos ingeridos ou o maior ou menor tempo do esvaziamento gástrico ou de trânsito intestinal.

Muitos dos fitoquímicos ingeridos apresentam uma baixa biodisponibilidade, especialmente quando comparados com os macronutrientes, devido ao fato de serem reconhecidos pelo organismo como compostos xenobióticos (HOLST; WILLIAMSON, 2008).

Atualmente, os modelos de digestão *in vitro* são amplamente utilizados com o objetivo de estudar, através da simulação das condições gastrointestinais, as alterações estruturais, a digestibilidade e a liberação de compostos presentes nos alimentos. Estes modelos compreendem, na sua generalidade, uma digestão com pepsina gástrica a pH ácido, seguida de uma digestão com pancreatina e sais biliares em condições ligeiramente alcalinas. Contudo, existem diversos fatores que influenciam os resultados dos métodos de digestão *in vitro*, tais como as características das amostras, atividade das enzimas, a composição iônica, os tempos de digestão e *stress* mecânico aplicado. Todos estes agentes fazem com que não se consigam resultados completamente iguais aos obtidos *in vivo* (HUR *et al*, 2011).

Diversos estudos têm sido efetuados para tentar estudar a estabilidade dos compostos bioativos de vários sucos de frutas, às condições de digestão gastrointestinal, tendo os resultados obtidos, por este tipo de metodologia, sendo os resultados um pouco controversos, na medida em que, dependendo do fruto, existem autores que sugerem a existência de alterações significativas após a digestão *in vitro* (BOUAYED *et al*, 2011; PAVAN *et al*, 2014), na digestão simulada *in vitro* para suco de maçã e suco de mamão, enquanto outros não o verificam (ODRIOZOLA-SERRANO *et al.*, 2009; RODRIGUEZ-ROQUE *et al*, 2014;) em suco de tomate e suco de laranja, respectivamente.

REFERÊNCIAS

- ABREU, L. F. **Avaliação e adaptação de sistema asséptico para obtenção de água de coco (*Cocos nucifera* L.) acondicionada em embalagens plásticas**. 2005. 219 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.
- ABREU, L. F. *et al.* Perfil sensorial e aceitabilidade de amostras de água de coco obtidas por diferentes processos de fabricação. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, Curitiba, v.23, n.2, p.397-412, 2005.
- ABREU, L. F.; FARIA, J. A. F. Influência da temperatura e do ácido ascórbico sobre a estabilidade físico-química e atividade enzimática da água de coco (*Cocos nucifera* L.) acondicionada assepticamente. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 2, p. 226-232, 2007.
- ALENCAR, S. M.; KOBLITZ, M. B. Oxirredutases. *In*. KOBLITZ, M. B. (Coord.) **Bioquímica de Alimentos: teoria e aplicações prática**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008, p. 125 - 152. (cap. 5).
- ANZALDO, F. E. *et al.* Modified coconut water: a suitable fluid for oral rehydration. **Philippine Journal of Science**, Filipinas, v. 109, n. 1-2, p. 9-14, 1980.
- ARAGÃO, W. M. A importância do coqueiro anão verde. Embrapa: [s.n.], 2000. Disponível em: <<http://www.embrapa.br/imprensa/artigos/2000/artigo.2004-12-07.2461636373/>>. Acesso em: 28. Nov. 2013.
- ARAGÃO, W. M. *et al.* Frutos de coqueiro para consumo natural. *In*: ARAGÃO, W. M. *et al.* (Ed) **Coco pós-colheita**. Brasília: Embrapa Informações Tecnológica; Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2002. cap. 3, p. 19-25.
- ARAGÃO, W.M.; CRUZ, E.M.O.; HELVÉCIO, J. S. Caracterização morfológica do fruto e química da água de coco em cultivares de coqueiro-anão. **Agrotrópica**, Ilhéus, v. 13, n. 2, p. 49 - 58, 2001.
- ARAGÃO, F. B. *et al.* **Produção de água de coco de cultivares de coqueiro verde**. Aracaju: EMBRAPA, 2005. p. 1-2. (Comunicado Técnico, 42).
- AWUA, A. K.; DOE, E.D., AGYARE, R. Exploring the influence of sterilisation and storage on some physicochemical properties of coconut (*Cocos nucifera* L.) water. **Biomed Central**, London, v. 4, p. 451 - 459, 2011.
- BALASUBRAMANIAN, M.; BOOPATHY, R. Purification and characterization of peroxidases from liquid endosperm of (*Cocos nucifera* L.): Biotransformation. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 90, n.1, p. 33-42, 2013.
- BARBOSA, J. H. P; OLIVEIRA, S.L.; SEARA, L.T. Produtos da glicação avançada dietéticos e as complicações crônicas do diabetes. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 22, n. 1, p.113-24, 2009.

BENASSI, A. C. **Caracterizações biométrica, química e sensorial de frutos de coqueiro variedade Anã Verde**. 2006. 98p. Tese (Doutorado em Agronomia) ´ Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho, Jaboticabal, 2006.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº. 18, de 27 de abril de 2010. Dispõe sobre alimentos para atletas. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 28 abr. 2010. Disponível em: < <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/52bee2804745886b91ffd53fbc4c6735>>. Acesso em: 27 jan. 2014.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 8, de 06 de março de 2013. Aprova o uso de aditivos alimentares para produtos de frutas e de vegetais e geléia de mocotó. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 06 mar. 2013. Disponível em: < [ortal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/1cac3e004edacb17a9e8ab8a610f4177](http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/1cac3e004edacb17a9e8ab8a610f4177) >. Acesso em: 25 jan. 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Instrução normativa nº 31, de 13 de agosto de 2009. Altera a Instrução Normativa 27/2009, que ´ Estabelece os procedimentos mínimos de controle higiênico-sanitário, padrões de identidade e características mínimas de qualidade gerais para a água de coco submetida a processos industriais e destinada para uso humano como bebida. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, n. 139, ago., 2009. Seção 1, página 32.

BOUAYED, J., HOFFMANN, L., BOHN, T. Total phenolics, flavonoids, anthocyanins and antioxidant activity following simulated gastro-intestinal digestion and dialysis of apple varieties: bioaccessibility and potential uptake. **Food Chemistry**, [S.l.], v. 128, n. 1, p.14-21, 2011.

BUCHNER, N. Aseptic processing and packaging of food particulates. *In*: WILLHOFT, E.M.A. **Aseptic processing and packaging of particulates foods**. Glasgow: Blackie Academic and Professional, 1993. Chap.1, p.1-22.

CABRAL, L. M. C. Estabilização da água de coco verde por meio de filtração com membranas. *In*: ARAGÃO, W.M. **Coco Pós-colheita**. Brasília: Embrapa, 2002. Cap. 7, p. 54-57 (Informação Tecnológica).

CALVETTE, Y. M. A. **Enzimas da água de coco**: caracterização da peroxidase e uso de alta pressão hidrostática para inativação das enzimas deteriorantes. 2007. 190f. Tese (Doutorado em Química Biológica) ´ Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2007.

CAMPBELL-FALCK, D. *et al.* The intravenous use of coconut water. **American Journal of Emergency Medicine**, New York, v. 18, n. 1, p.108´111, 2000.

CAMPO, DEL G. *et al.* Quantitative analysis of malic and citric acids in fruit juices using proton nuclear magnetic resonance spectroscopy. **Analytica Chimica Acta**, [S.l.],v. 556, p. 462´468,2006.

CAMPO, C. F. *et al.* Chemical composition, enzyme activity and effect of enzyme inactivation on flavor quality of green coconut water. **Journal Food Processing Preservation**, College Park , v. 20, n. 6, p. 487-500, 1996.

CAMPOS, C. F.; SOUZA, P. E. A.; COELHO, J. V.; GLÓRIA, M. M. B. A. Chemical composition, enzyme activity and effect of enzyme inactivation on flavor quality of green coconut water. **Journal Food Processing Preservation**, College Park , v. 20, n. 6, p. 487-500, 1996.

CHEN, B., GRANDISON, A., LEWIS, M.J. Effect of seasonal variation on some physical properties and heat stability of milk subjected to ultra-high temperature and in-container sterilisation. **Food Chemistry**, [S.l.], v.181, n.1, p. 227-234, 2015

CARVALHO, J. M. *et al.* Composição mineral de bebida mista a base de água de coco e suco de caju clarificado. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, Curitiba , v. 24, n. 1, p.1-12, 2006.

CHITARRA, A. B.; CHITARRA, M. I. F. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**. Lavras: UFLA, 2005. 783p.

CONCELLÓN, A.; AÑÓN, M.C.; CHAVES, A.R. Characterization and changes in polyphenol oxidase from eggplant fruit (*Solanum melongena* L.) during storage at low temperature. **Food Chemistry**, Reading, v. 88, n. 1, p. 17-24, 2004.

CUNY, M.; GALL, G. LE; COLQUHOUN, I.J.; LEES, M.; RUTLEDGE, D.N. Evolving Window Zone Selection method followed by Independent Component Analysis as useful chemometric tools to discriminate between grapefruit juice, orange juice and *blends*. **Analytica Chimica Acta**, v. 597, p. 203-213, 2007

COSTA, L. M. C. *et al.* Avaliação de água de coco obtida por diferentes métodos de conservação. **Ciência e Agrotecnologia de Lavras**, Lavras, v. 29, n.6, p. 1239-1247, 2005.

COSTANZO, L. S. **Fisiologia**. 4ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011. 495 p.

CTENAS, M. L .B. *et al.* **Frutas das Terras Brasileiras**. São Paulo: C2, 2000, p. 99-103.

CURSINO, M. M. *et al.* Contribuição à industrialização da água de coco (*Cocos nucifera*) verde. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 15., 1996, Poços de Caldas. **Anais...Poços de Caldas: SBCTA**, 1996.

DAVID, P. R .B. S.; FERNANDES, Z.F. Conservação de água de coco por refrigeração. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 16, n. 1,p. 1-12, 1998.

DEBMANDAL, M; MANDAL, S.Coconut (*Cocos nucifera* L.:Arecaceae): In. Health promotion and disease prevention. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, [S.l.], v. 4, p. 241-247, 2011.

DEBIEN, I. C.N. **Produção de água de coco (*Cocos nucifera*) utilizando membranas de micro e ultrafiltração de celulose, PES e PVDF**. 2010. 126 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2010.

DEL ROSARIO, E. J.; PAPA, G. M.; BERGONIA, H. A.; REYES, C. S. Concentration of coconut water by plate and frame reverse osmosis using cellulose acetate membrane. **ASEAN Food Journal**, Malaysia, v.2, n.1, p.19- 24, 1986.

DEFERNEZ, M.; COLQUHOUN, I. J. Factors affecting the robustness of metabolite fingerprinting using ¹H NMR spectra. **Phytochemistry**, Norwich - United Kingdom. v. 62, n. 6 p. 1009-1017, 2003.

DEME, P. *et al.* LC-MS/MS determination of organophosphorus pesticide residues in coconut water. **Food Analytical Methods**, New York, v. 6, n. 4, p. 1162- 1169, 2013.

DOSUALDO, G.L. **Efeito do processo de homogeneização a ultra alta pressão na redução da carga microbiana e da atividade enzimática da água de coco.** 2007. 153f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007.

DRYER, J. M.; DEIBEL, K. E. Canned foods - tests for commercial sterility. In: VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D. F. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. 3a ed. Washington: American Public Health Association, 1992. Chap.60. p. 1037-1049

DUTCOSKY, S. D. **Análise sensorial de alimentos.** In: _____. Métodos subjetivos ou afetivos. 2.ed. Curitiba: Champagnat, 2007. p. 141 - 179.

DUARTE, A. C. P., COELHO, M. A. Z., LEITE, S. G. F. Identification of peroxidase and Tyrosinase in Green Coconut Water. **Cienciay Tecnologia Alimentaria, Ourense**, v.3, n. 5, p. 266-270, 2002.

EDMOND L.M, MAGEE E. A, CUMMINGS J. H. An IEC method for sulphite and sulphate determination in wine without predistillation. **LC GC Europe**. v. 6, p.88-94, 2003.

EXETE-TZENG.; HSUEH-ERR-CHEN. Preventing nonenzymatic browning in coconut water during sterilization. **Food Science**, New York, v.25, n.3, p.304-313, 1998.

FAGUNDES NETO, U. *et al.* Água de coco: variações de sua composição durante o processo de maturação. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v.65, n.1-2, p. 17-21, 1989.

FATIBELLO-FILHO, O.; VIEIRA, I. C. Uso analítico de tecidos e de extratos brutos de vegetais como fonte enzimática. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, n. 3, p. 455-464, 2002.

FELLOWS, P.J. **Tecnologia do Processamento de Alimentos**. 2.ed. Porto Alegre: Artmed, 2006. 602 p.

FINOT, P. A. Historical perspective of the Maillard reaction in food science. **Annals of the New York Academy of Sciences**, New York, v. 1043, p. 1-8, 2005.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS STATISTICS. Produção mundial de água de coco em 2011. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>>. Acesso em 10 dez. 2013.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. Production (2013). Disponível em: < http://faostat3.fao.org/browse/Q/*E. > Acesso em 30 out. 2015

FONSECA A, M. *et al.* Coconut water (*Cocus nucifera* L.) - A new biocatalyst system for organic synthesis. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, [S.l.], v.57, n. 1-4, p. 78-82, 2009.

FONSECA, Aluísio M. da *et al.* Constituents and antioxidant activity of two varieties of coconut water (*Cocus nucifera* L.). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 19, n. 1B, p. 193-198, 2009.

FONTAN, R. C. I. *et al.* Cinética de inativação da peroxidase em água de coco. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, n. 1, p. 249-258, 2012.

FOX, P.F. **Food enzymology**. [S.l.]: ElsevierSci.Publ. Ltd., Barking, U.K., 1991.

FRANCO, M. R. B.; JANZANTTI, N. S. Avanços na metodologia instrumental da pesquisa do sabor. In. FRANCO, M. R. B. **Aroma e sabor de alimentos: temas atuais**. São Paulo: Varela, 2004. p. 17 -27. (cap. I).

GAO, Z. J., HAN, X. H., XIAO, X. G. Purification and characterisation of polyphenol oxidase from red Swiss chard (*Beta vulgaris* subspecies *cicla*) leaves. **Food Chemistry**, [S.l.], v. 117, n.1, p.342-348, 2009.

HASEENA, M.; KASTURI, K.V.; PADMANABHAN, S. Post-harvest quality and shelf-life of tender coconut. **Journal of Food Science and Technology**, [S.l.], v.47, n. 6, p. 686-689, 2010.

HAMINIUK, C. W. I. *et al.* Efeito de pré tratamentos no escurecimento das cultivares de maçã Fuji e Gala apos o congelamento. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, n. 5, p.1029-1033, 2005.

HODGE, J. E. Chemistry of browning reactions in models systems. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 1, n. 15, p. 928-43, 1953.

HOLST, B., WILLIAMSON, G. Nutrients and phytochemicals: from bioavailability to bioefficacy beyond antioxidants. **Current Opinion in Biotechnology**, v.19, p.73-82, 2008.

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

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Levantamento Sistemático da produção Agrícola**: pesquisa mensal de previsão e acompanhamento das safras agrícolas no ano civil Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Rio de Janeiro, 2012.

JACKSON, J.C.; GORDON, A.; WIZZARD, G.; McCOOK, K.; ROLLE, R. Changes in chemical composition of coconut (*Cocus nucifera* L.) water during maturation of the fruit. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, [S.l.], v.9, n.84, p.1049-1052, 2004.

KALMAN, D. S. *et al.* Comparison of coconut water and a carbohydrate-electrolyte sport drink on measures of hydration and physical performance in exercise-trained men. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, [S.l.], v.9, n.1, p. 1-10, 2012.

KIKUDA, A.T.; TADINI, C.C., FERNANDES R. Modelo de primeira ordem multicomponente para inativação térmica em processo descontínuo da peroxidase e polifenoloxidase presentes na água de coco verde (*Cocos nucifera* L.). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 28, 2002. Porto Alegre. **Anais...** Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Porto Alegre, 2002.

KWIATKOWSKI, A.; OLIVEIRA, D. M.; CLEMENTE, E. Atividade enzimática e parâmetros físico-químicos de água de cocos colhidos em diferentes estádios de desenvolvimento e estação climática. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.34, n.2, p. 551-559, 2012.

KWAK, E. J; LIM, S. I. The effect of sugar, amino acid, metal ion and NaCl on model Maillard reaction under pH control. **Amino Acids**, Viena, v. 27, n. 1, p. 85-90, 2004.

LE GALL, G.; PUAUD, M.; COLQUHOUN, I. J.. Discrimination between orange juice and pulp wash by 1H nuclear magnetic resonance spectroscopy: identification of marker compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Norwich - United Kingdom. vol. 49, p. 580-588, 2001

MACHADO, R. M; TOLEDO, M. C. Sulfitos em Alimentos. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.9, n. 4, p. 265-75, 2006.

MACIEL, M. I.; OLIVEIRA, S. L.; SILVA, I. P. da Effects of different storage conditions on preservation of coconut (*Cocos nucifera*) water. **Journal of Food Processing and Preservation**, New York, v. 16, p 13-22, 1992

MAGALHÃES, M. P. *et al.* Conservação de água de coco verde por filtração com membrana. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 1, p. 72-77, 2005.

MAGDA, R. R. Coco soft drink: health beverage from coconut water. **Food Marketing and Technology**, Noremberg, v.6, n.6, p.22-23, 1992.

MARQUES, L. M. P. C.; GALLI, V. Água de coco: propriedades nutricionais, funcionais e comercialização. SEMANA DE TECNOLOGIA EM ALIMENTOS, 5. **Anais...** Ponta Grossa, [s.n.], v. 2, n. 1, p. 1-10, 2007.

MATSUI, K.N. *et al.* Inactivation kinetics of polyphenol oxidase and peroxidase in green coconut water by microwave processing. **Journal of Food Engineering**, [S.l.],v.88, n.2. p.169-176, 2008.

MENDONÇA, S. C. de; GUERRA, N. B. Métodos físicos e químicos empregados no controle do escurecimento enzimático de vegetais. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 37, n. 2, p. 113-118, 2003.

MESSANO, A. J. G. P. Princípios de Processamento Térmico ~ Esterilização. Disponível em <<http://docplayer.com.br/11253054-Processamento-aseptico.html>>. Acesso em: 15 mar. 2015.

MU, J., HE, Y., WANG, Y. Copper-incorporated SBA-15 with peroxidase-like activity and its application for colorimetric detection of glucose in human serum. **Talanta**, v,148, n. 1, p.22-28, 2016.

MURASAKI-ALIBERTI N.D. *et al.* Thermal inactivation of polyphenoloxidase and peroxidase in green coconut (*Cocos nucifera*) water. **International Journal of Food Science and Technology**, New Jersey, v. 4, n. 12, p. 2662~2668, 2009.

MURASAKI, N. C.; da SILVA, R. M. S.; TADINI, C.C. Inativação térmica por processo descontínuo e contínuo da peroxidase e polifenoloxidase presentes na água de coco verde. *In*: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 25., 2004, Recife. **Anais** Recife: Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2004. 1 CD-ROM.

NASCIMENTO, E. S. P. **Análise metabolômica via RMN**: amostras de urina e látex. 2011. 171 f. Tese (Doutorado em Química) ~ Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2011.

NORD, L. I.; VAAG, P.; DUUS, J. O. Quantification of organic and amino acids in beer by 1HNMR spectroscopy. **Analytical Chemistry**, [S.l.], v. 76, p. 4790-4798. 2004

NUNES, C.S; BAPTISTA, A.O. Implicações da reação de Maillard nos alimentos e nos sistemas biológicos. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, Lisboa, v. 96, n. 538, p. 53-59, 2001.

ODRIOZOLA-SERRANO, I. *et al.* Carotenoid and phenolic profile of tomato juices processed by high intensity pulsed electric fields compared with conventional thermal treatments. **Food Chemistry**,[S.l.], v. 112, n. 1, p. 258-266, 2009

PAVAN, V.; SANCHO, R. A.S.; PASTORE, G. M. The effect of in vitro digestion on the antioxidant activity of fruit extracts (*Carica papaya*, *Artocarpus heterophyllus* and *Annona muricata*). **LWT-Food Science and Technology**, [S.l.], v. 59, n. 2, p. 1247-1251, 2014.

PFLUG, I.J.; ODLAUG, T.E.; CHRISTENSEN, R. Computing a minimum public health sterilizing value for food with pH values from 4.6 to 6.0. **Journal of Food Protection**, [S.l.], v. 48, n. 10, p. 848~850, 1985.

PEREIRA, E.P.R., FARIA, J.D.A, PINTO, U.M. Optimizing the use of potassium sorbate and sodium metabisulfite for the chemical and microbial stability of carbonated coconut water. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v.16, n. 1, p. 125-132, 2013.

PEDERSEN, D. K.. **Spectroscopy and chemometric exploration of food quality**: early prediction of meat quality. 2002. 233f. Tese (Doutorado em Veterinary and Agricultural) ~ Department of Dairy and Food Science ;The Royal Veterinary and Agricultural University, 2002.

PENHA, E. M.; CABRAL, L. M. C.; MATTA, V. M. Água de coco. *In*. VENTURNI FILHO, W. G. (Coord.). **Tecnologia de Bebidas: matéria-prima, processamento, BPF/APPCC e legislação**. São Paulo: Edgar Blucher, 2005. p. 103-118. (cap. 5).

PIZZOFERRATO, L., DI LULLO, G., QUATTRUCCI, E. Determination of free, bound and total sulphites in foods by indirect photometry-HPLC. **Food Chemistry**, v. 63, n. 2, p. 275-79, 1998.

POPOLIM, W. D. **Estimativa da ingestão de sulfitos por escolares pela análise qualitativa da dieta** (Dissertação). São Paulo: Universidade de São Paulo; 2004.

PRADES, A. *et al.* Coconut water preservation and processing: a review. **Fruits**, [S.l.] v. 67, n. 03, p. 157-171, 2012.

PURKAYASTHA, M. *et al.* Effect of L-ascorbic acid addition on the quality attributes of micro-filtered coconut water stored at 4 °C. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, [S.l.], v. 16, p. 69-79, 2012.

RAMÍREZ, E. C.; WHITAKER, J. R.; VIRADOR, V. M. Polyphenol oxidase. *In*: WHITAKER, J. R.; VORAGEN, A. G. J.; WONG, D. W. S. **Handbook of Food Enzymology**. New York : Marcel Dekker, 2003. Cap. 39, p. 509-523.

RAPEANU, G. *et al.* Effect of pH on thermal and/or pressure inactivation of victoria grape (*Vitis vinifera sativa*) polyphenol oxidase: a kinetic study. **Journal of Food Science**, Malden, v. 70, n. 5, p. 301-307, out., 2005.

REDDY, K. V.; DAS, M.; DAS, S. K. Non-thermal sterilization of green coconut water for packaging. **Journal of Food Quality**, Iowa, v. 30, n. 4, p. 466-480, 2007.

RIBEIRA, D. *et al.* Absence of adverse effects of sodium metabisulphite in manufactured biscuits: results of subacute (28-days) and subchronic (85-days) feeding studies in rats. **Food Additives and Contaminants**, v. 18, n. 2, p. 103-114, 2001.

ROBINSON, D. S. Peroxidases and catalases in foods. *In*: ROBINSON, D. S.; ESKIN, N. A. M. **Oxidative enzymes in foods** . New York: Elsevier Applied Science, 1991. p. 1-45.

RODRÍGUEZ-ROQUE, M. J. *et al.* In vitro bioaccessibility of health-related compounds as affected by the formulation of fruit juice-and milk-based beverages. **Food Research International**, [S.l.], v. 62, p. 771-778, 2014.

ROSA, M. F.; ABREU, F. A. P. **Água de coco - Métodos de Conservação**. Fortaleza: SEBRAE/CE, EMBRAPA, 2000. 42 p.

ROSA, M. F.; ABREU, F.A.P. Processos convencionais de conservação de água-de-coco. *IN*: ARAGÃO, W. M. **COCO - Pós-colheita**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2002. Cap. 6, p. 42-53.

SANTOS-BUELGA, C.; SCALBERT, A. Proanthocyanidins and tannin-like compounds - nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health. **Journal of Science and Food Agriculture**, v.80, p.1094-117, 2000

SAPERS, G. M. Browning of foods: control by sulfites, antioxidants and other means. **Food Technology**, Chicago, v. 10, n. 47, p. 75-84, 1993.

SATIN, M. New sports drink: coconut water - The FAO coconut water process: Technical details. **Agriculture**, [S.l.] v. 21. 1998 - 2000. Disponível em: <<http://www.fao.org/ag/magazine/9810/spot3.htm>> . Acesso em: 8 fev. 2014.

SILVA, C. R. R. *et al.* Estabilidade da água de coco submetida ao processo `hot pack`. **Publicação UEPG Ciências Exatas Terra, Ciências Agrícolas, Engenharia**, Ponta Grossa, v.9, n.3, p.15-21, 2003.

SILVA, G. A. P. Diarréia Aguda: fatores de risco e manejo. **Revista de Pediatria (Ceará)**, Fortaleza, v.3 n.1, p.5-9, 2002.

SILVA, O.P. Coisas do Brasil, Flora - Frutos do Brasil. Disponível em: <http://pu3yka.com.br/Brasil/coisasdobrasil/flora/frutosdobrasil3/_frutosbrasil3.htm> Acesso em: 19 jul 2014.

SOUSA, R. A. *et al.* Determination of metals in bottled coconut water using an inductively coupled plasma optical emission spectrometer. **Journal of Food Composition and Analysis**, Paris, v. 18, n. 5, p. 399-408. 2005.

SPRAUL, M. *et al.* NMR-Based multi parametric quality control of fruit juices: SGF Profiling. **Nutrients**. [S.l.] v. 01, p. 148-155. 2009.

SREBERNISH, S. M. **Caracterização física e química da água de fruto de coco (*Cocos nucifera*), variedades gigante e híbrido PB-121, visando o desenvolvimento de uma bebida com características próximas às da água de coco**. 1998. 189p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1998.

STONE, H.; SIDEL, J.L. **Sensory evaluation practices**. London. Academic Press, 1985. 311p.

SUKHONTHARA, S.; KAEWKA, K.; THEERAKULKAIT, C.. Inhibitory effect of rice bran extracts and its phenolic compounds on polyphenol oxidase activity and browning in potato and apple puree. **Food chemistry**, [S.l.], v. 190, p. 922-927, 2016.

TAN, T. C. *et al.* Composition, physicochemical properties and thermal inactivation kinetics of polyphenol oxidase and peroxidase from coconut (*Cocos nucifera*.L) water obtained from immature, mature and overly-mature coconut, **Food Chemistry**, [S.l.], v. 142, n.1, p. 121-128, 2014.

TEIXEIRA, I. S.; TEIXEIRA, R. C. F.; SOUZA, A. L. S. O sistema produtivo da AMACOCO - água de coco da Amazônia Ltda. *In*: SIMPÓSIO DE EXCELÊNCIA EM GESTÃO E TECNOLOGIA, 2., 2005, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: Associação Educacional Dom Bosco, 2005. p. 805-816.

TEIXEIRA, L. A. J. *et al.* Adubação com NPK em coqueiro-Anão-Verde (*Cocos nucifera* L.) rendimento e qualidade de frutos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 27, n. 1, p. 120-123, 2005.

VÁMOS-VIGYÁZÓ, L.V. Polyphenol oxidase and peroxidase in fruits and vegetables. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Massachusetts, v. 15, n. 1, p. 49-127. 1981.

VIGLIAR, R.; SDEPANIAN, V. L; NETO, U.F. Biochemical profile of coconut water from coconut palms planted in an inland region. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v. 82, n.4, p. 308-312, 2006.

WALKER, J. R. L. Enzymatic browning in fruits - Its biochemistry and control. *In*: LEE, C. Y.; WHITAKER, J. R. **Enzymatic browning and its prevention**. Washington: American Chemical Society, 1995. Chap. 2, p. 9-22.

WALTER E.H.M *et al.* Modelling the growth of *Listeria monocytogenes* in fresh green coconut (*Cocus nucifera* L.) water. **Food Microbiology**, Filadélfia, v.26, n. 6. p.653-657, 2009.

WHITAKER, J. R. Catalase and Peroxidase. *In*: WHITAKER, J. R. (Ed.). **Principles of Enzymology for the Food Sciences**. New York: Dekker, 1994.

YORUK, R., MARSHALL, M.R. Physicochemical properties and function of plantpolyphenol oxidase: a review. **J. Food Biochem.**[*S.l.*] v.27, n.1, p. 361-422, 2003.

CAPÍTULO 1

EFEITO DAS CONDIÇÕES DE PROCESSO UHT E USO DE ADITIVOS NAS CARACTERÍSTICAS ENZIMÁTICAS, FÍSICO-QUÍMICAS E DE COR DA ÁGUA DE COCO.

RESUMO

Prolongar a vida de prateleira da água de coco, sem modificar o seu sabor e propriedades de cor, sensoriais e nutricionais é um desafio para a indústria. As tecnologias de processamento e conservação aplicadas permitem o aumento da vida de prateleira do produto, como exemplo a esterilização UHT (*Ultra High Temperature*) e a associação com uso de aditivos que contribuem para minimizar as alterações sensoriais. O presente capítulo foi subdividido em quatro experimentos, sendo seus objetivos: (1) Avaliar o efeito do processamento UHT na atividade enzimática e na mudança de cor da água de coco; (2) analisar o uso de ácido ascórbico e de metabissulfito de sódio nas características físico-químicas, enzimáticas e de cor da água de coco esterilizada e (3) investigar a regeneração da atividade enzimática e o surgimento da cor rosada em água de coco UHT adicionada ou não de sulfito no decorrer de 28 dias e (4) avaliar sensorialmente amostras esterilizadas por UHT e atribuir descritores que caracterizassem o produto. Para o experimento 1, foram avaliados quatro diferentes tratamentos (142, 138, 120 e 110°C, os dois últimos caracterizando subprocessamento) e realizadas análises de atividade das enzimas polifenoloxidase (PPO) e peroxidase (POD) e de cor (L^* , a^* e b^*). Os resultados indicaram que a água de coco *in natura* apresentou maiores valores de atividade para ambas as enzimas, tendo seus valores reduzidos cerca de 80% após o processamento térmico, bem como exibiu menores valores de b^* (-1,19), com menor tendência ao amarelo. O tratamento a 120°C apresentou maiores valores médios no parâmetro a^* (0,53), com tendência para a o vermelho. No experimento 2, a água de coco foi extraída e submetida a esterilização UHT, a qual foi formulada com ácido ascórbico (200 mg. L⁻¹) e metabissulfito de sódio (30 mg. L⁻¹), após o processamento, sendo avaliados os parâmetros: pH, acidez titulável, sólidos solúveis, cor e atividade enzimática da polifenoloxidase (PPO) e peroxidase (POD). A água de coco adicionada de ácido ascórbico apresentou maior valor b^* (0,09), exibindo uma cor amarela no produto. A utilização de ácido ascórbico e metabissulfito de sódio reduziu cerca de 85% da atividade de POD e PPO. O processo de esterilização associado ao uso de aditivos diminuiu a ação destas enzimas. Com relação ao experimento 3, foram analisados quatro tratamentos com dois diferentes binômios tempo x temperatura (136°C/8s e 110°C/8s), na presença e na ausência do aditivo sulfito. As análises de pH, SST, enzimas polifenoloxidase e peroxidase, turbidez, cor e quantidade de sulfito foram avaliadas a cada 7 dias, durante 28 dias. Notou-se que as amostras tratadas a 110°C/8s e sem a adição de sulfito apresentaram coloração rosada logo após 24 h de processamento. A cor rosada apresentada na água de coco subprocessada não se relacionou à atividade enzimática, e o metabissulfito de sódio mostrou evitar o aparecimento dessa coloração na condição de esterilização e subprocessamento (110°C/8s). Para o experimento 4 foram utilizados dois binômios de esterilização (135°C/9s e 142°C/4,1s) e comparados com o tratamento controle. Observou-se que não houve diferença estatística entre o tratamentos esterilizados por UHT, com média de 5,00 e 5,17, respectivamente. Vinte termos descritores foram definidos para aroma e sabor.

Palavras-chave: *Ultra High Temperature; Cocos nucifera, L.; Polifenoloxidase; Peroxidase.*

1.1 INTRODUÇÃO

A água de coco *in natura* deve ser logo consumida após abertura do fruto. Depois da abertura do fruto iniciam os processos de deterioração que comprometem, principalmente, a cor e o sabor da água de coco (ARAGÃO *et al.*, 2001).

Considerando que o processamento em escala industrial requer, entre outras condições, produtividade com baixo custo e boa qualidade do produto final, a esterilização apresenta-se como uma tecnologia potencialmente eficiente na obtenção de produtos de fruta. As indústrias que processam coco verde para obtenção da água têm enfrentado problemas de origem enzimática e/ou microbiológica que mudam as características sensoriais e a palatabilidade do produto (HOFFMANN *et al.*, 2002). Pode-se considerar que os principais problemas de conservação da água de coco são o aparecimento de turvação, formação de uma coloração rosada ou amarelada e alteração de sabor.

O surgimento dessa coloração rosada durante a estocagem é o grande problema encontrado pela indústria. Rosa e Abreu (2000) e Cabral (2002) creditaram o surgimento da cor rosada à atividade enzimática ou reações não enzimáticas, além da incorporação de oxigênio durante o processamento. Garcia *et al.* (2007) afirmaram que a cor rosada em água de coco se deve a reações enzimáticas causada pela atividade da enzima PPO e ao contato com metais, como o cobre, já que este é cofator capaz de catalisar as reações de escurecimento. Já Damar (2006) informou que a formação de cor rosa em água de coco armazenada é possivelmente devida a aeração e aquecimento acelerado, e o autor observou, também, que o ácido ascórbico e metabissulfito estabilizam a cor, atrasando o surgimento da cor rosada, revelando que o surgimento dessa cor devido à ação microbiana ou enzimática é improvável, pois a ebulição da água de coco não evitou a formação de cor de rosa.

Neste trabalho objetivou-se avaliar o efeito da temperatura de processamento UHT com uso de diferentes binômios tempo x temperatura, relacionando-os às características de atividade enzimática e cor, bem como a análise sensorial das amostras tratadas termicamente, verificar o efeito da adição de aditivos ácido ascórbico e do metabissulfito de sódio como antioxidantes, além de investigar a mudança de cor e regeneração de enzimas na água de coco com e sem metabissulfito de sódio, durante 28 dias.

1.2 MATERIAL E MÉTODOS

1.2.1 Material

Cocos verdes (*Cocus nucifera*, L.) entre 6 e 7 meses de maturação foram colhidos em Paraipaba, Estado do Ceará, Brasil. Os aditivos utilizados (metabissulfito de sódio e ácido ascórbico) foram da marca VETEC. Foram utilizadas garrafas de vidro e garrafas de polietileno tereftalato (PET), de 212 mL, com tampa rosqueável de polipropileno (PP) de 28mm com *liner*.

1.2.2 Processo UHT (*Ultra High Temperature*)

Foi utilizado equipamento esterilizador, interligado a *chiller* de água gelada e à unidade de envase asséptico, conforme descrito na etapa de `esterilização UHT`, de acordo com o fluxograma de processo apresentado na Figura 1. A unidade de esterilização utilizada para os experimentos é a existente no Laboratório de Processos Agroindustriais na Embrapa Agroindústria Tropical.

1.2.2.1 Descrição das etapas de processo de esterilização de água de coco:

Recepção: Os cocos foram descarregados manualmente e permaneceram sob temperatura ambiente, até o momento do processamento.

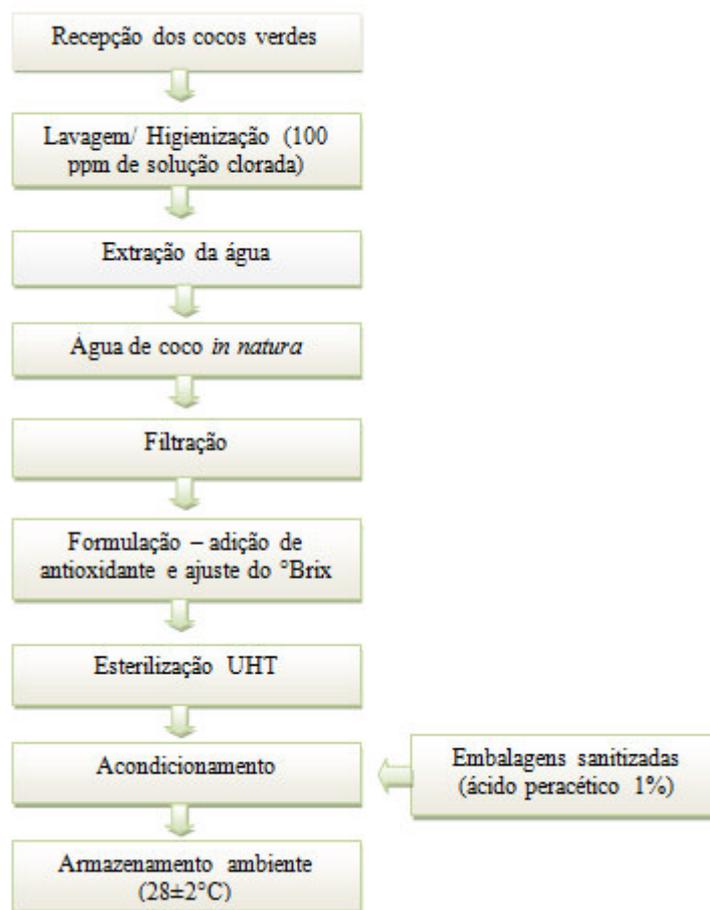
Lavagem e sanitização: Os cocos foram enxaguados com água potável para retirada das sujidades maiores, utilizando-se escova quando necessário. E, posteriormente, foram imersos em tanque de aço inoxidável contendo solução de hipoclorito de sódio com 100 mg.L⁻¹ de cloro ativo, permanecendo imersos de 15 a 20 minutos.

Extração da água: Os cocos foram abertos com máquina contendo lâmina acionada por dispositivo pneumático, para corte lateral dos cocos até expor a parte branca (endosperma sólido) e se necessário abertura do mesocarpo manualmente com faca inox, e então a água de coco foi escorrida.

Filtração: Foi realizada em tecido de poliéster para reter fragmentos de casca, resíduos ou fibras provenientes da casca ou polpa incorporados à água de coco.

Formulação / padronização: A formulação e padronização da água de coco seguiram as recomendações de Abreu (2005), sendo os sólidos solúveis ajustados com frutose para 6,0 Brix, se necessário, e com adição dos aditivos sulfito ou ácido ascórbico, de acordo com cada tratamento planejado.

Figura 1 - Fluxograma de processamento e envase da água de coco.



Fonte: A autora (2013).

Esterilização / resfriamento: O esterilizador foi um trocador de calor tubular, com vazão nominal de 20 L/h, da marca Armfield, modelo FT74, ilustrado na Figura 3.

O resfriamento da água de coco foi realizado na sequência do trocador de calor, utilizando um sistema de refrigeração que faz recirculação de água gelada (chiller) da marca Armfield FT63.

Acondicionamento/ Armazenamento: Foi realizado em uma câmara de fluxo laminar vertical, marca Armfield modelo FT 83, contendo filtro microbiológico HEPA de alta eficiência (Figura 2), sendo dada atenção especial à limpeza e higiene das embalagens a fim de evitar recontaminação do produto. Foram utilizadas embalagens de polietileno tereftalato

(PET) ou garrafas de vidro, volume 212 mL, previamente higienizadas com solução de ácido peracético 1%, fechadas com tampa rosqueável, também sanitizadas com solução de ácido peracético a 1%, seguido de enxágüe com água esterilizada, de acordo com Abreu (2005). Cada garrafa recebeu uma identificação referente à ordem de acondicionamento, binômio utilizado e data de processo. O armazenamento ocorreu sob temperatura ambiente ($28\pm 2^\circ\text{C}$).

Figura 2 - Trocador de calor Armfield FT 74 e câmara de fluxo laminar FT 83.



Fonte: A autora (2015).

1.2.3 Experimentos de processo UHT em água de coco

Foram realizados quatro experimentos, baseados em testes preliminares, sendo eles:

- Experimento 1: Avaliação do efeito da temperatura na atividade enzimática e na mudança de cor em água de coco.

- Experimento 2: Avaliação do efeito do uso de aditivos nas características físico-químicas, enzimáticas e de cor rosada em água de coco após processo térmico.

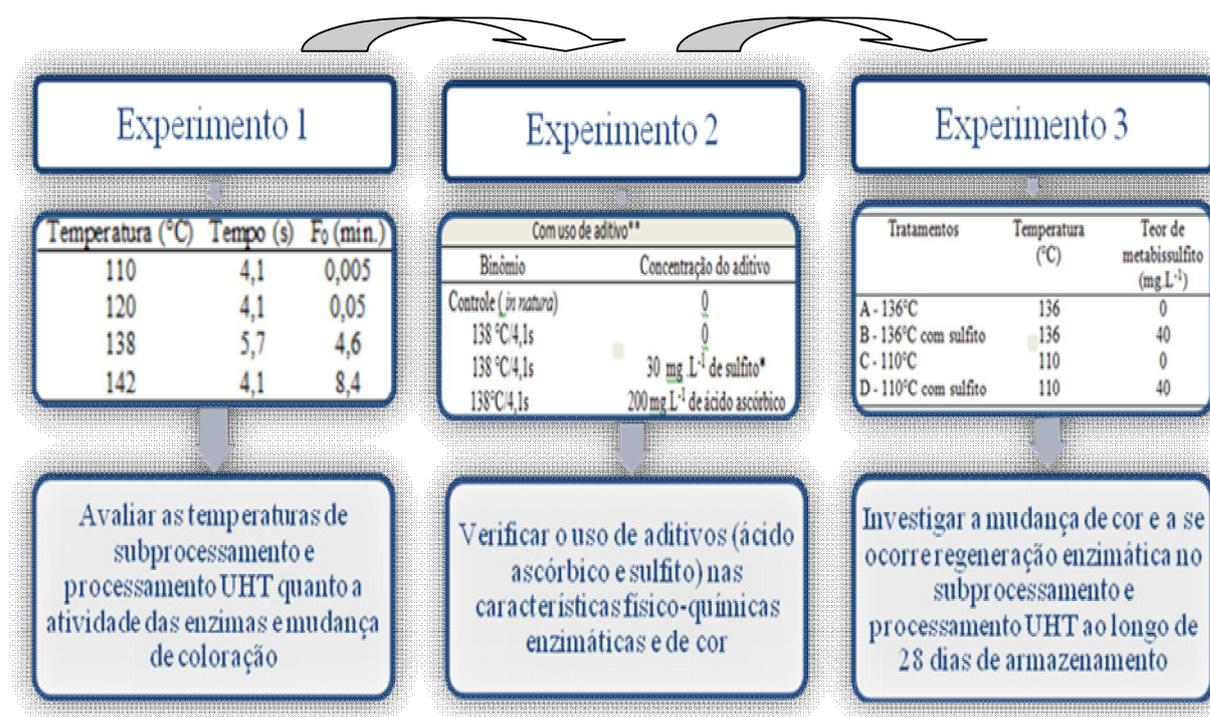
- Experimento 3: Avaliação do efeito do processamento térmico e do uso de sulfito no controle da atividade enzimática e no surgimento da cor rosada na água de coco durante 28 dias

- Experimento 4: Análise sensorial da água de coco esterilizada por UHT.

Em testes preliminares, observou-se o aparecimento da coloração rosada na água de coco em temperaturas na faixa de 100 a 120°C (subprocessadas no esterilizador UHT). Então, foi decidido realizar experimentos utilizando temperaturas de subprocessamento (110°C e 120°C) e de esterilização propriamente dita (138°C e 142°C), a fim de observar surgimento de cor rosada e sua associação com a atividade enzimática e o tratamento térmico.

Verificou-se que a água de coco subprocessada apresentou a cor indesejável. Com o objetivo de investigar o uso de aditivos na inibição ou retardo do surgimento da cor, foi realizado o experimento 2 e observado que o tratamento com metabissulfito apresentou menores variações de cor, uma vez que o tratamento com ácido ascórbico revelou amostras amareladas no decorrer o tempo. Com a adoção do metabissulfito de sódio como aditivo, planejou-se o experimento 3, que teve como finalidade avaliar o uso do metabissulfito de sódio na temperatura de subprocessamento e na temperatura de esterilidade UHT (definida em planejamento DCCR) e verificar a mudança de cor e a regeneração da atividade enzimática ao longo do tempo (28 dias). As amostras subprocessadas tratadas sem metabissulfito apresentaram a cor rosada, evidenciando que o aditivo inibiu o aparecimento da cor rosa. O esquema dos experimentos está ilustrado na Figura 3.

Figura 3 - Esquema da sequência dos experimentos 1, 2 e 3 realizados na água de coco.



1.2.3.1 Experimento 1: Avaliação do efeito da temperatura na atividade enzimática e na mudança de cor em água de coco

Foi planejado para o experimento 1, um delineamento inteiramente casualizado com quatro binômios tempo x Temperatura diferentes (Tabela 1), dos quais dois tratamentos (138

e 142°C) são adequados para a esterilização comercial, com F_0 (letalidade de processo) maior que 3 minutos a 121,1°C, e dois tratamentos considerados como subprocessamento (110 e 121°C) em que a letalidade de processo foi menor que 3 minutos a 121°C. As análises foram realizadas após 24h de armazenamento a temperatura ambiente (28°C ± 2°C).

Tabela 1 - Descrição das condições de trabalho para avaliar o efeito da temperatura na atividade enzimática da água de coco.

Temperatura (°C)	Tempo (s)	F_0 (min.)
110	4,1	0,005
120	4,1	0,05
138	5,7	4,6
142	4,1	8,4

Fonte: A autora (2013).

A letalidade de processo foi calculada de acordo com Smith (2003) (Equação 1), onde T é a temperatura de processo, T_{ref} , é a temperatura de referência de 121,1°C, e z representa o intervalo de temperatura que ocasiona uma variação de 10 vezes na velocidade de destruição, considerado como referência os esporos de *Clostridium botulinum*, cujo $Z = 10$ °C (FDA, 2007).

$$\text{Letalidade de processo} = 10^{\frac{(T-T_{ref})}{z}} = 10^{\frac{(T-121,1)}{10}} \quad (\text{Equação 1})$$

Considera-se tratamento de esterilização UHT quando a amostra é submetida a temperaturas superiores a 130°C, levando em consideração a taxa de letalidade do processo (F_0) que deve ser maior ou equivalente a 3 minutos de processo a 121,1°C. Este é mínimo exigido para evitar a possibilidade de sobrevivência de esporos de *Clostridium botulinum*, que é a bactéria patogênica de referência em produtos esterilizados de baixa acidez, como a água de coco. As temperaturas de 110 °C e 120 °C foram testadas para avaliar o comportamento do produto, não sendo considerada uma condição de esterilidade, pois em testes preliminares feitos em temperaturas inferiores a 120°C, ocorreu mudança de cor com formação de cor rosada após um dia de estogem em temperatura ambiente.

A escolha dos binômios foi baseada em testes preliminares, utilizando temperaturas que variaram de 100°C a 142°C, sendo observado que durante a estocagem, em tempo variando de um a quinze dias, a água de coco processada apresentou coloração rosada quando processada em temperaturas menores que 120°C, no entanto, em temperaturas mais elevadas

de processo UHT (acima de 130°C), evitou-se a formação de cor rosada.. O experimento foi realizado em três repetições de processamento, com intervalo aproximado de um mês, sendo que em cada repetição os cocos foram colhidos cerca de dois dias antes do processo, sempre provenientes de Paraipaba - CE, da mesma região, buscando-se evitar variações de variedade ou região de colheita.

1.2.3.2 Experimento 2: Avaliação do efeito do uso de aditivos nas características físico-químicas, enzimáticas e de cor rosada em água de coco após processo térmico

Para este experimento a temperatura de esterilização UHT e o tempo de retenção foram padronizados em 138°C/4,1s ($F_0 = 3,5$ min) a fim de observar somente o efeito do uso dos aditivos. Foram utilizados quatro tratamentos, sendo um controle e três com a mesma intensidade de tratamento térmico UHT, variando em cada tratamento térmico somente a adição de antioxidantes, conforme Tabela 2. Realizou-se a formulação através da adição de ácido ascórbico (200 mg.L⁻¹) e sulfito (30 mg.L⁻¹) que aconteceu imediatamente antes do tratamento térmico nas proporções indicadas. A temperatura de esterilização UHT e o tempo

Foram realizadas análises de pH, sólidos solúveis, acidez, atividade das enzimas polifenoloxidase e peroxidase, cor (L^* , a^* , b^*) em todos os tratamentos. As amostras foram mantidas armazenadas a temperatura ambiente (28°C ±2°C) .

Tabela 2 - Tratamentos utilizando antioxidantes ácido ascórbico ou metabissulfito de sódio

Com uso de aditivo**		
Tratamentos	Binômio	Concentração do aditivo
T1	Controle (<i>in natura</i>)	0
T2	138 °C/4,1s	0
T3	138 °C/4,1s	30 mg .L ⁻¹ de sulfito*
T4	138°C/4,1s	200 mg.L ⁻¹ de ácido ascórbico

*expresso como SO₂ residual
Fonte: A autora (2013).

Os resultados foram expressos como média ± desvio padrão. A avaliação estatística do experimento 2 foi feita por análise de variância e com teste de Tukey a 5% de significância para verificar se houve ou não diferença significativa entre os tratamentos.

1.2.3.3 Experimento 3: Avaliação do efeito do processamento térmico e do uso de sulfito no controle da atividade enzimática e no surgimento da cor rosada na água de coco durante 28 dias de armazenamento sob temperatura ambiente.

Foram testados quatro tratamentos, com binômios de 110°C/8s e 136°C/8s, com e sem adição de sulfito, com o objetivo de verificar se ocorria a regeneração da atividade enzimática e a mudança de cor no período avaliado (28 dias). Os tratamentos foram denominados de A, B, C e D, conforme Tabela 3.

Tabela 3- Condições e denominações dos tratamentos de água de coco analisadas.

Tratamentos	Binômio	Teor de metabissulfito (mg.L ⁻¹)
A - Sem sulfito	136°C/8s	0
B - Com sulfito	136°C/8s	40
C - Sem sulfito	110°C/8s	0
D - Com sulfito	110°C/8s	40

A temperatura de 136°C/8s foi escolhida nesta pesquisa porque foi a que mais se aproximou do ponto central definido em planejamento DCCR (capítulo 2) e a concentração de metabissulfito de sódio (40 mg.L⁻¹), foi aplicada para testar um valor próximo ao máximo permitido pela legislação (50 mg.L⁻¹). A utilização da temperatura de 110° C, que é insuficiente para se atingir a esterilidade comercial, foi utilizada como forma de obter resultado positivo para alteração de cor (formação de cor rosada) no armazenamento, e comparar os resultados deste tratamento com os outros, com foco principal na atividade enzimática. O sulfito foi utilizado para complementar o experimento anterior e verificar se o uso desse aditivo era eficiente para retardar ou evitar o aparecimento da cor rosada em condições de subprocessamento UHT (110°C/8s), o qual já se esperava a formação de cor rosa.

A água de coco processada por UHT foi armazenada sob temperatura ambiente (28±2°C), protegida da luz. A cada 7 dias, durante 28 dias, os tratamentos (A, B, C e D) foram avaliados através de determinações químicas e físico-químicas. Análises de pH, sólidos solúveis, cor (L*, a*, b*), atividade das enzimas polifenoloxidase e peroxidase, teor de sulfito e turbidez foram realizadas objetivando avaliar principalmente a ocorrência de mudança de cor e regeneração da atividade enzimática nos tratamentos no decorrer do tempo.

Para o experimento 3 a análise estatística foi feita avaliando a média e o desvio padrão entre os tempos e tratamentos.

1.2.3.4 Análise Sensorial da água de coco esterilizada por UHT

A aceitação sensorial da água de coco foi realizada no dia seguinte após o processamento, por 52 provadores não treinados que julgaram o nível de aceitação dos atributos aroma, sabor e impressão global.

A água de coco foi processada em sistema de esterilização UHT de acordo com o descrito no item 1.2.2.1, de forma a ter os tratamentos:

- controle: água de coco *in natura*;
- água de coco, processo UHT a 136°C/9s
- água de coco, processo UHT a 142 °C/4,1s

Utilizou-se o teste de escala hedônica estruturada de nove pontos, onde 9 significava a nota de valor máximo `gostei extremamente_ e 1 a nota de valor mínimo `desgostei extremamente_ de acordo com metodologia descrita por Meilgaard, Civille e Carr (1991), para identificação das características mais aceitas e menos aceitas da água de coco, visando melhorias no desenvolvimento do produto.

Também foi utilizada uma Análise Descritiva dos atributos de aroma e de sabor (*Free Listing*), onde era solicitado ao consumidor que listasse espontaneamente todos os atributos sensoriais que caracterizam a água de coco, segundo metodologia de Hough e Ferraris (2008).

A escolha dos tratamentos se deu devido às taxas de letalidade (F0) estarem acima do tempo estimado (3 minutos) (PFLUG, ODLAUG, CHRISTENSEN, 1985), excetuada a amostra controle, que não sofreu tratamento térmico.

Amostras de cada tratamento de água de coco resfriadas entre 12°C e 14°C, foram servidas em taças de vidro, contendo cerca de 25 mL do produto, codificadas com três dígitos aleatórios. Os provadores avaliaram individualmente as amostras de cada tratamento, gerando os termos descritivos de forma livre, ou seja, os atributos percebidos na amostra (*Free Listing*), ocorrendo assim o levantamento de atributos, em que houve o desenvolvimento da terminologia descritiva das amostras.

No segundo momento, de posse desses termos gerados, foi realizada uma reunião com uma equipe de 13 provadores treinados, habituados a participar de sessões de análise descritiva quantitativa, constituídos de funcionários da Embrapa Agroindústria Tropical. A equipe eliminou os termos sinônimos e irrelevantes, ocorrendo assim uma escolha de termos que melhor se adequaram ao aroma e sabor das amostras analisadas.

A análise aconteceu em três sessões com a equipe de 13 julgadores selecionados e treinados e a sessão foi conduzida em cabines individuais e luz branca.

Para a análise estatística dos dados utilizou-se a análise de variância (ANOVA) com comparação de médias pelo teste de Tukey a 5% de significância por meio do programa estatístico Fizz.

1.2.4 Análises químicas, físico-químicas, enzimáticas e cor

1.2.4.1 pH

Foi medido conforme metodologia da AOAC (1995). Acidez titulável e sólidos solúveis (SS) de acordo com as normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz (2008).

1.2.4.2 Polifenoloxidase:

A atividade de polifenoloxidase (PPO) foi realizada de acordo com o método desenvolvido por Ponting e Joslyn (1948) e adaptada por Campos *et al.* (1996). O método utiliza catecol como substrato. Em uma cubeta de plástico para espectrofotômetro de percurso óptico de 10 mm, foram colocados 2,30 mL de solução tampão fosfato 0,2 M (pH 7,0) com 0,7 mL de catecol 0,2 M. A mistura foi então colocada em banho maria a 25 °C durante 10 min. Em seguida, foi acrescentado 1,0 mL de água de coco que foi agitada, e a leitura a 425 nm foi realizada em espectrofotômetro. A absorbância foi registrada no tempo zero e 10 minutos.

1.2.4.3 Peroxidase

A atividade da peroxidase (POD) foi realizada pelo mesmo método adaptado por Campos *et al.* (1996). O método utiliza o guaiacol como substrato e peróxido de hidrogênio (H₂O₂) como um catalisador para reação. Em uma cubeta descartável de plástico para espectrofotômetro de caminho ótico 10 mm, foram colocados 2,3 mL de tampão de fosfato 0,2 M (pH 5,0) com 0,5 mL de guaiacol 0,5 g/L e 0,2 mL de peróxido de hidrogênio 0,1%. A mistura foi colocada em banho maria a 35°C durante 10 min. Em seguida, 1,0 mL de água de coco foi adicionada e a leitura feita em espectrofotômetro a 470 nm. A absorbância foi registrada no tempo zero e 10 minutos.

Para a análise das duas enzimas, a referência é fornecida em um branco substituindo água de coco por água destilada. A unidade de atividade enzimática é definida como U que é a quantidade de enzima que provoca uma alteração na absorbância de 0,001 por minuto. Os resultados foram expressos em UAE.mL⁻¹. O pH dos tampões utilizados para ambas as enzimas estava de acordo com estudos prévios, que encontraram o pH ótimo para polifenoloxidase e peroxidase.

1.2.4.4 Cor

As medidas de cor foram realizadas em Colorímetro Konica Minolta, modelo CR 400. Foi utilizado o sistema de cor CIE lab, com iluminante D65, ângulo do observador de 10°. Para as medidas de cor, foram determinados os seguintes parâmetros: L* - Luminosidade, que varia de 0 (preto) a 100 (branco); a* - cromaticidade, que varia de +a* (vermelho) a -a* (verde); e b* - cromaticidade, que varia de +b* (amarelo) a -b* (azul).

1.2.4.5 Turbidez

Foi medida através de Turbidímetro digital de bancada Tecnopon TB-1000.

1.2.4.6 Sulfito

A análise quantitativa de sulfito foi efetuada com uso do método M-W otimizado, conforme indicado no método 990.28 da AOAC (2006). Foi montado um aparato em que a amostra de água de coco reagia com ácido clorídrico sob aquecimento durante duas horas, na presença de fluxo de nitrogênio a baixa vazão. Os gases de enxofre formados foram condensados e colhidos em balões com peróxido de hidrogênio 3%, resultando em ácido sulfúrico (H₂SO₄). Essa solução resultante foi titulada com hidróxido de sódio e efetuado o cálculo para expressão do resultado de sulfito contido na amostra.

Todas as análises foram realizadas em triplicata.

1.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

1.3.1 Experimento 1: Avaliação do efeito da temperatura na atividade enzimática e na mudança de cor em água de coco

Os resultados dos valores médios de atividade das enzimas polifenoloxidase e peroxidase de cada tratamento estão apresentados na Tabela 4.

A água de coco *in natura* (sem tratamento térmico) apresentou maiores valores médios para ambas as enzimas, e pode-se observar que o tratamento térmico provoca a diminuição da atividade enzimática.

Tabela 4 - Médias das atividades enzimáticas em diferentes temperaturas, 24h após processamento UHT.

Tratamento	Polifenoloxidase (UAE.mL ⁻¹)	Peroxidase (UAE.mL ⁻¹)
	24h	24h
<i>In natura</i>	9,76 ± 12,70	13,21 ± 21,56
110 °C/4,1s	1,41 ± 0,28	0,56 ± 0,97
120 °C/4,1s	0,28 ± 0,41	0,40 ± 0,69
138 °C/5,7s	0,03 ± 0,05	0,29 ± 0,23
142 °C/4,1s	0,36 ± 0,62	0,10 ± 0,08

Fonte: Elaborado pela autora (2013).

Média de três repetições ± desvio-padrão.

A peroxidase apresentou valor mais elevado que a polifenoloxidase, sendo o desvio-padrão elevado devido ao fato de a água de coco ser proveniente de diferentes períodos de colheita em cada repetição. O tratamento UHT (138°C/5,7s e 142°C/4,1s) inibiu a atividade das enzimas polifenoloxidase (PPO) e peroxidase (POD), para valores próximos aos limites de detecção do método, que foi 0,07 e 0,12 para a POD e PPO, respectivamente.

Embora não se tenha observado diferença entre os tratamentos UHT, o binômio 138°C/5,7s apresentou menores valores médios de PPO, enquanto o tratamento utilizando o binômio de 142°C/4,1s foi o que apresentou menor atividade para a enzima peroxidase.

Os resultados da inativação térmica da PPO e da POD estão de acordo com o que foi reportado na literatura, onde alguns autores verificaram que o tratamento térmico para inativação da enzima peroxidase na água de coco verde, só é eficiente acima de 90°C (CAMPOS *et al.*, 1996). A água de coco *in natura* apresentou maiores valores médios (9,76 UAE.mL⁻¹) quando comparadas aos tratamentos processados termicamente, que exibiram valores inferiores (0,03 a 1,41 UAE.mL⁻¹) próximos ou abaixo do limite de quantificação. O

aparecimento da cor rosa neste experimento, não está associado à atividade enzimática, visto que os tratamentos que apresentaram essa coloração (110°C e 120°C) exibiram atividade enzimática similar quando comparadas às amostras não rosadas (Figura 4). Esses resultados diferem da indicação de Rosa e Abreu (2000) e Abreu (2005), que associaram a cor rosada como possivelmente devido à atividade das enzimas.

Os resultados dos parâmetros de cor (L^* , a^* , b^*), estão expressos na Tabela 5.

Tabela 5 - Parâmetros de cor da água de coco 24 horas após processamento

Tratamentos	L^*	a^*	b^*
<i>In natura</i>	28,45 ^a ± 1,10	-0,09 ^b ± 0,12	-1,19 ^a ± 0,08
110 °C/4,1s	27,87 ^a ± 2,65	0,29 ^{ab} ± 0,31	-0,15 ^a ± 0,20
120 °C/4,1s	28,87 ^a ± 2,52	0,53 ^a ± 0,32	-0,16 ^a ± 0,90
138 °C/5,7s	28,90 ^a ± 1,57	0,12 ^{ab} ± 0,19	-0,52 ^a ± 0,36
142 °C/4,1s	29,37 ^a ± 1,99	0,15 ^{ab} ± 0,25	0,07 ^a ± 1,04

Fonte: Elaborado pela autora (2013).

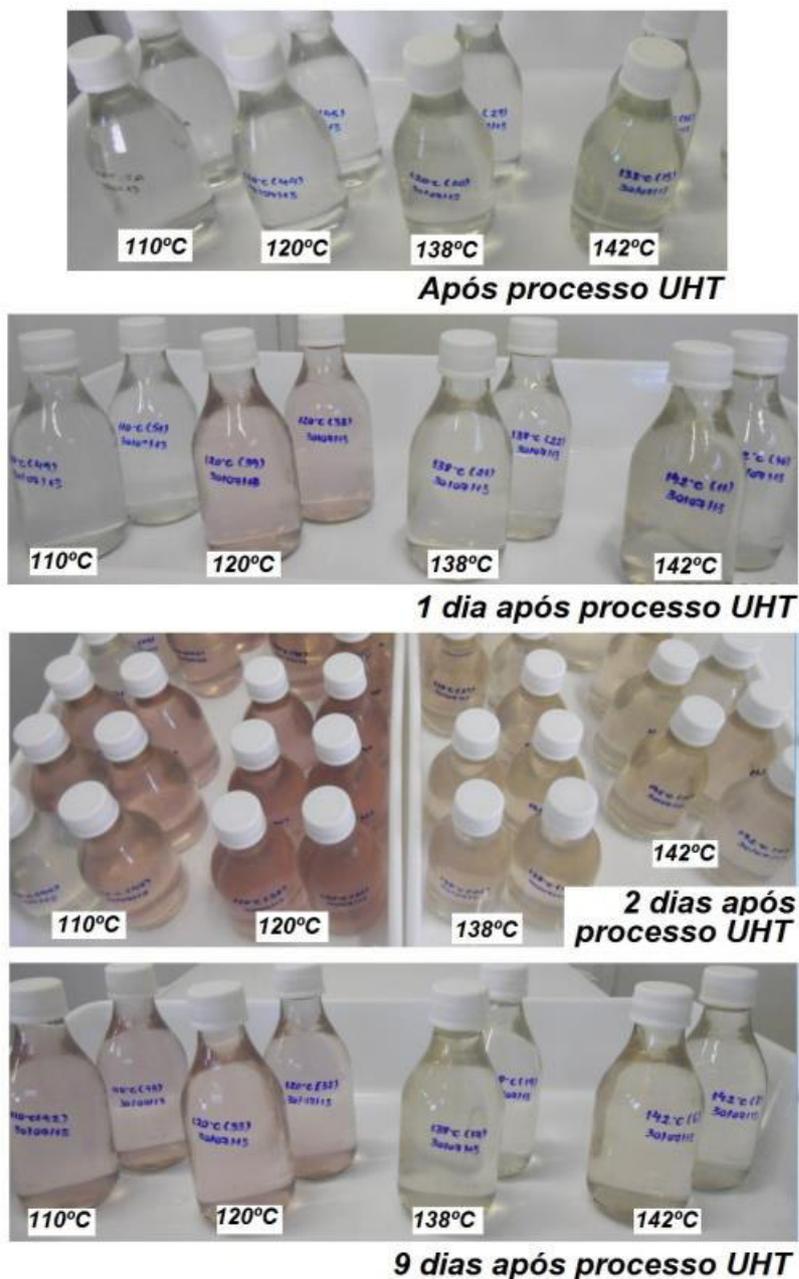
Letras diferentes seguindo as médias indicam diferença significativa em teste de Tukey ($p < 0,05$).

Para os tratamentos realizados após 24 horas de processamento, o valor de L^* (luminosidade) variou de 27,87 a 29,37, não sendo verificada diferença estatística entre os tratamentos avaliados.

As amostras tratadas a 110°C e 120°C apresentaram maiores valores médios no parâmetro a^* (0,29 e 0,53), com tendência para a o vermelho (Figura 4). Esse resultado pode ser confirmado pelo aparecimento da cor rosada que surgiu na água de coco.

Embora não tenha apresentado diferença significativa, o parâmetro b^* (do azul ao amarelo) variou de 0,07 (para o tratamento de 142°C/4,1 s) a -1,19 (para a água de coco *in natura*) que apresentou menores valores de coordenada b^* e conseqüentemente, menos tendência à cor amarelada. Esse comportamento era esperado, visto que a alteração de cor para o amarelo acontece com maior frequência em amostras submetidas ao processamento térmico. Observou-se nesse experimento que os tratamentos de água de coco subprocessada (110°C e 120°C) apresentaram coloração rosada, enquanto amostras esterilizadas por UHT tenderam para o amarelo, com leve oxidação da amostra. Este estudo sugere que temperaturas de 100 a 120°C contribuem para o surgimento dessa cor, apontando para uma provável reação química para formar o pigmento cor de rosa, entretanto não foi possível associar a alteração de cor à atividade das enzimas PPO ou POD.

Figura 4 - Coloração da água de coco 1, 2 e 9 dias após o processo UHT nos quatro diferentes binômios e armazenada a temperatura ambiente ($28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$)



Fonte: A autora (2013).

1.3.2 Experimento 2: Avaliação do uso de aditivos nas características físico-químicas, enzimáticas e de cor rosada em água de coco submetida a processo térmico UHT

Os resultados das análises físico-químicas são apresentados na Tabela 6, podendo ser observado que o uso de aditivos não influenciou as medidas de pH e sólidos solúveis. O pH variou de 5,0 a 5,2 e os sólidos solúveis oscilaram entre 6,15° e 6,35° Brix, estando os valores em conformidade com a legislação brasileira para água de coco esterilizada (BRASIL, 2009).

Tabela 6- Resultados das análises físico-químicas e enzimáticas da água de coco UHT tratada com antioxidantes*.

Tratamento	pH	SS (°Brix)	Acidez (g.100mL ⁻¹)	Atividade enzimática (UAE.mL ⁻¹)		Cor		
				PPO	POD	L*	a*	b*
<i>In natura</i>	5,05 ^a	6,25 ^a	0,15 ^a	5,00 ^a	12,10 ^a	30,2 ^a	0,05 ^b	-0,54 ^c
138°C/4,1s	5,20 ^a	6,15 ^a	0,13 ^b	1,47 ^b	1,12 ^b	29,23 ^a	0,28 ^a	0,02 ^b
138°C/4,1s com sulfito ¹	5,05 ^a	6,30 ^a	0,11 ^b	0,15 ^d	2,20 ^b	29,75 ^a	0,03 ^b	0,00 ^b
138°C/4,1s com AA ²	5,00 ^a	6,35 ^a	0,13 ^b	0,98 ^c	1,94 ^b	29,35 ^a	0,11 ^b	0,09 ^a

Fonte: Elaborado pela autora (2013).

*As médias seguidas por letras diferentes na mesma coluna, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade ($p < 0,05$). ¹30 mg. L⁻¹ de sulfito; ²AA⁻ ácido ascórbico 200 mg. L⁻¹

Quanto à acidez titulável, foi verificado que a água de coco sem tratamento térmico (*in natura*) apresentou maior valor médio (0,15 g.100 mL⁻¹), diferenciando-se significativamente ($p < 0,05$) dos demais tratamentos (UHT e UHT com aditivos). Possivelmente houve degradação do ácido málico pelo calor, corroborando com menores valores de acidez. A água de coco dos três tratamentos UHT avaliados encontram-se em conformidade com a legislação brasileira para água de coco esterilizada (BRASIL, 2009).

Os resultados de atividade enzimática indicaram maior valor médio para a água de coco *in natura*, exibindo diferença significativa ($p < 0,05$) quando comparada com os tratamentos UHT. A água de coco *in natura* apresentou maior atividade para a polifenoloxidase, enquanto o tratamento com sulfito (138°C/4,1 com 30 mg. L⁻¹ de sulfito) revelou menores médias, sugerindo que a utilização deste aditivo associada à esterilização diminuem significativamente a atividade da PPO. Para a atividade da enzima peroxidase a água de coco *in natura* também apresentou maior média (12,10 UAE.mL⁻¹) com diferença significativa diante dos demais tratamentos, evidenciando que o tratamento térmico UHT, independente do uso de aditivos inativa quase totalmente a atividade da enzima oxidativa peroxidase. A diminuição da atividade das enzimas após uso da temperatura de esterilização era esperada, uma vez que o calor em alta intensidade desnatura enzimas e inibe a ação enzimática.

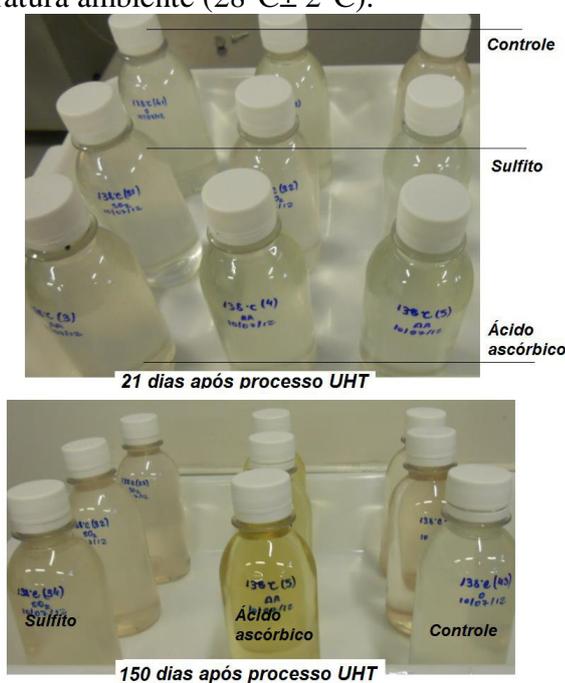
Para os parâmetros de cor, os valores de L* variaram de 30,20 (água de coco *In natura*) a 29,23 (água de coco esterilizada a 138°C/4,1s). A amostra controle apresentou

maior luminosidade, pois não sofreu com reações de escurecimento ocorridas em processo térmico.

Observou-se com relação a coordenada a^* que o maior valor médio foi de 0,28 para a água de coco esterilizada por UHT (138°C/ 4,1s) sem adição de antioxidante, apontando que o uso de aditivos retarda a mudança de cor em água de coco, que apresentou menor de coordenada a^* para o tratamento que utilizou 30 mg.L⁻¹ de sulfito.. Com relação ao parâmetro b^* (azul ao amarelo), o maior valor médio foi o de 0,09 para a água de coco adicionada de ácido ascórbico, indicando tendência para cor amarela, resultado que corrobora com a coloração amarela encontrada na água de coco tratada termicamente e adicionada de ácido ascórbico, sugerindo a oxidação do composto.

A Figura 5 mostra os tratamentos UHT de água de coco após 21 e 150 dias de armazenamento sob temperatura ambiente e protegido da luz, onde se observa que a água de coco adicionada de ácido acórbico apresentou visualmente coloração amarela intensa, e por esse motivo optou-se por não prosseguir utilizando este antioxidante. A coloração amarelada não se estabelece de imediato, mas aos poucos, sendo visual após 15 a 30 dias de armazenamento.

Figura 5 - Água de coco sem aditivo, com ácido acórbico e com sulfito após 21 e 150 dias de armazenamento a temperatura ambiente (28°C± 2°C).

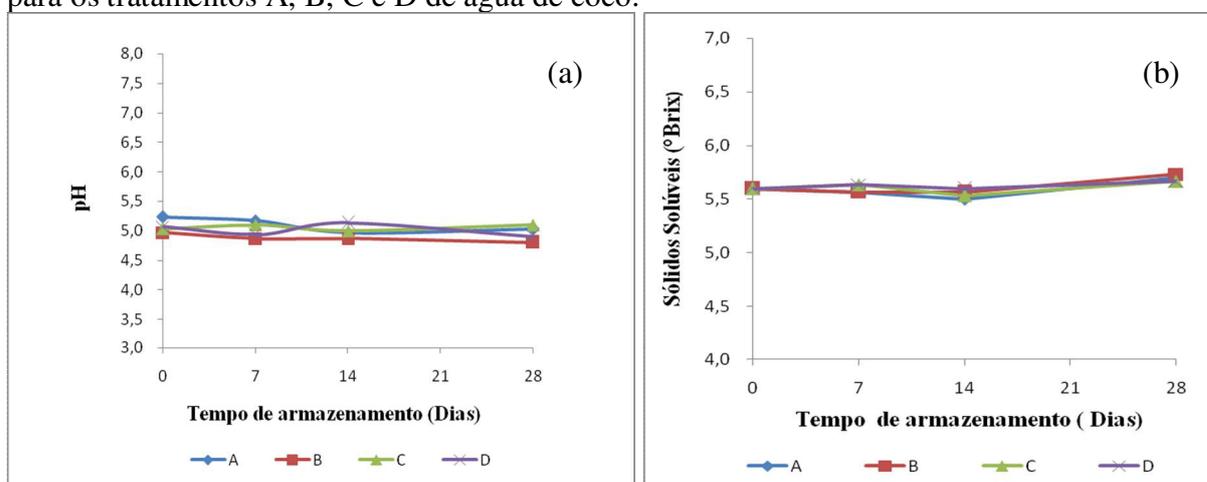


Fonte: A autora (2013).

1.3.3 Experimento 3: Avaliação do efeito do processamento térmico UHT e do uso de sulfito no controle da atividade enzimática e no surgimento da cor rosada na água de coco durante 28 dias de armazenamento a temperatura ambiente

O objetivo destas análises foi avaliar principalmente a ocorrência de mudança de cor e aumento da atividade enzimática das amostras no decorrer do tempo, o que caracterizaria a regeneração da PPO e POD, bem como verificar o aparecimento da coloração rosada no tratamento C (UHT a 110°C/8s sem adição do sulfito) e mostrar a eficiência do uso do sulfito em evitar o surgimento dessa cor indesejada. Observou-se no decorrer dos 28 dias de avaliação da estabilidade que a água de coco apresentou poucas variações. Os resultados podem ser observados nas Figuras 6 a 12, apresentadas na sequência. O pH apresentou valores médios próximos a 5,0 e sólidos solúveis (°Brix) variando de 5,6 a 5,7, como ilustrado na Figura 6, exibindo comportamento similar em todos os tempos avaliados e não apresentando alterações durante os 28 dias de estocagem sob temperatura ambiente.

Figura 6 - Variação do pH(a) e dos SS (b) em função do tempo de armazenamento de 28 dias para os tratamentos A, B, C e D de água de coco.



Fonte: A autora (2015).

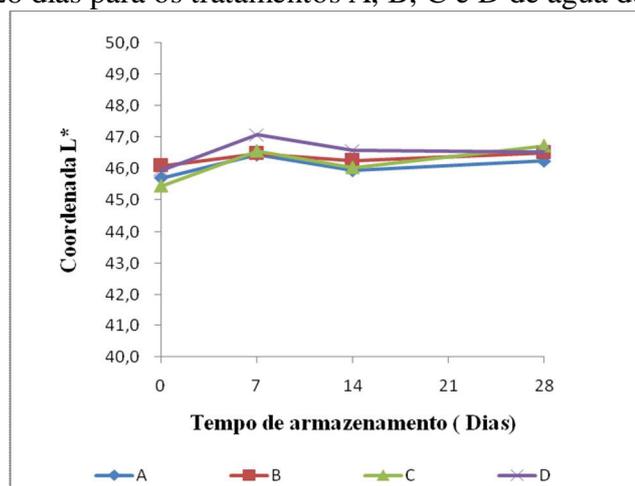
Chowdhury *et al.*, (2009) também não observaram diferença no pH durante o primeiro mês de análise. No geral, esses parâmetros se alteram a partir do terceiro mês de armazenamento, alterações normalmente causadas por contaminação microbológica.

Segundo Silva *et al.* (2008), avaliando a estabilidade em néctar de maracujá elaborado com água de coco, também constataram que não houve diferença significativa ($P > 0,05$) para os sólidos solúveis durante 180 dias de armazenamento. Em geral, as medições

de pH e SS são importantes parâmetros que permitem avaliar as condições higiênico-sanitárias e qualidade da água de coco, além de determinar as características físicas e químicas do produto.

A avaliação de cor (parâmetros L^* , a^* , b^*) apresentou variações entre os tratamentos e também em função do tempo. Os valores de L^* variaram entre 45,4 e 47,1 (Figura 7). No experimento anterior (Experimento 2) a leitura no colorímetro foi realizada diretamente na garrafa transparente que continha a água de coco. Neste experimento e nos posteriores, o colorímetro foi posicionado diretamente nas amostras, sem a intervenção da embalagem. Possivelmente isto tenha contribuído para a diferença entre os valores médios nos experimentos. Mesmo quando se observou a coloração rosada, no tratamento C, como se observa na Figura 9, não se relaciona a uma variação significativa no valor do parâmetro L^* .

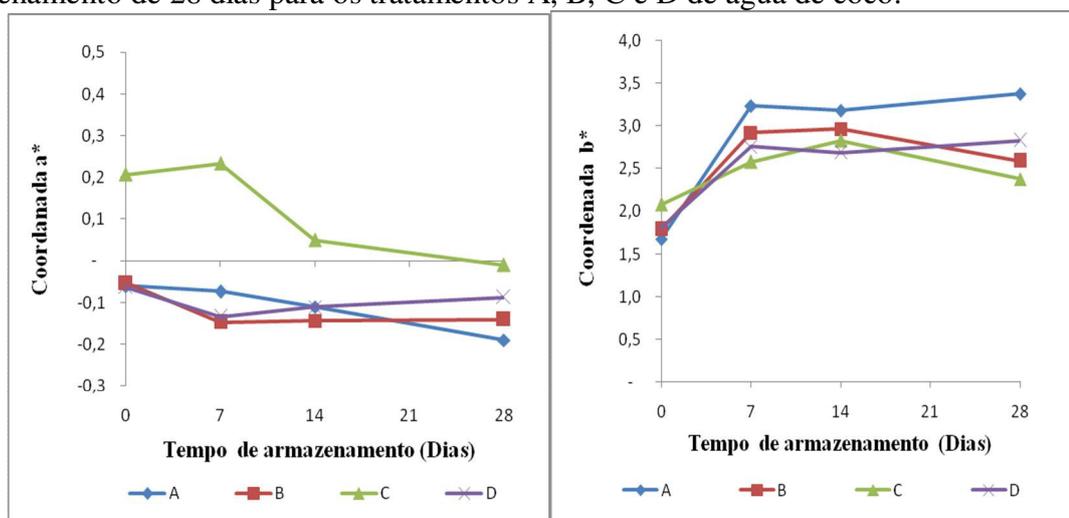
Figura 7 - Variação da coordenada L^* , coordenada a^* e coordenada b^* em função do tempo de armazenamento de 28 dias para os tratamentos A, B, C e D de água de coco.



Fonte: A autora (2015).

As coordenadas a^* com gráfico de valores médios apresentados na Figura 8, permitem observar que o tratamento C, relacionado ao subprocessamento a 110°C e sem adição de sulfito, apresentou maiores valores, foi também o tratamento que apresentou coloração rosada, observando-se um decaimento no valor desta coordenada de 14 a 28 dias de estocagem. Os outros tratamentos apresentaram valores inferiores para a coordenada de cor a^* , na ordem de -0,1 a -0,2.

Figura 8 - Variação da coordenada a* e coordenada b* em função do tempo de armazenamento de 28 dias para os tratamentos A, B, C e D de água de coco.



Fonte: A autora (2015).

A amostra C exibiu maiores valores de a*, diferindo estatisticamente dos tratamentos que continham sulfito (B e D) e não diferindo da amostra A (136°C/8s, sem adição de sulfito). Embora não tenha sido observada diferença estatística entre os tratamentos analisados A e C, pode-se verificar visualmente a mudança de coloração da amostra C (processada a 110°C/8s sem o uso do aditivo sulfito) para a cor rosada (Figura 9).

Delfiya e Thangavel (2016) também observaram coloração rosada um dia após processamento com aquecimento ôhmico utilizando 100°C/3min e armazenado a 25°C.

Figura 9 - Mudança de cor observada na água de coco após 2 dias de processamento*.



Fonte: A autora (2015).

*Os tratamentos são: A, B, C e D, da esquerda para a direita.

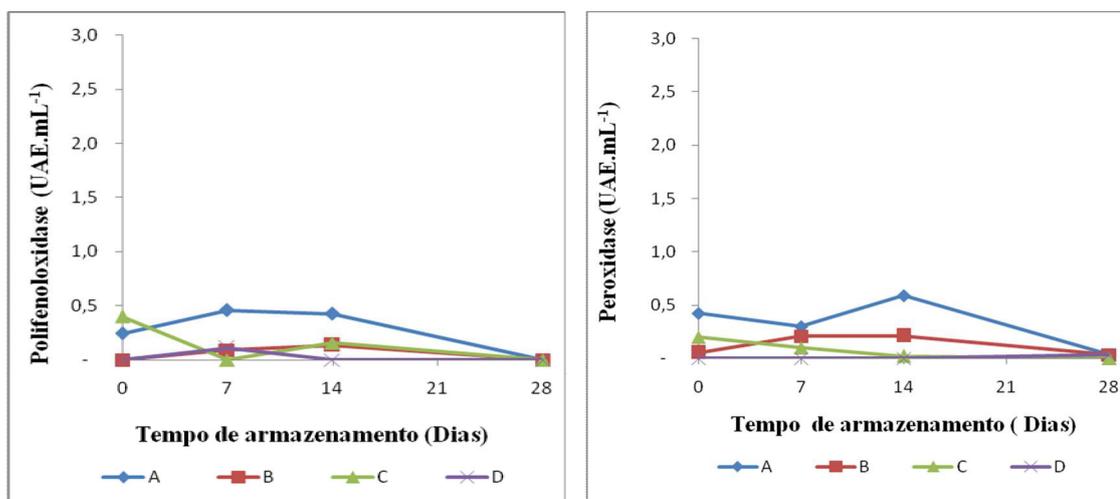
Damar (2006) estudou a formação da cor rosada em água de coco armazenada e descobriu que aeração e aquecimento aceleram o rosado e ácido ascórbico e metabissulfito

estabilizam a cor, impedindo o surgimento do rosado. O autor também afirmou que a cor rosa na água de coco, devido à ação microbiana ou enzimática é improvável, pois a ebulição da água de coco não fez evitar a formação de cor-de-rosa.

A coordenada b^* variou de 1,7 a 3,2, (Figura 8) com um leve aumento após 7 dias de armazenamento, mantendo valores praticamente constantes no decorrer dos seguintes dias. A amostra A apresentou maior valor médio de b^* , isto pode ser devido ao uso de altas temperaturas e a ausência do sulfito, que contribuiu para cor amarela da água de coco, pois os sulfitos são amplamente utilizados para evitar o escurecimento enzimático e não enzimático (PEREIRA; FARIA; PINTO, 2013).

O tratamento A exibiu maiores valores de atividade nas duas enzimas (PPO e POD) mensuradas, porém ambos os tratamentos apresentaram atividade nula ao final do tempo de armazenamento (Figura 10). A atividade enzimática foi muito baixa, não chegando a atingir $1,0 \text{ UAE. mL}^{-1}$.

Figura 10 - Variação da atividade das enzimas Polifenoloxidase e Peroxidase em função do tempo de armazenamento de 28 dias para os tratamentos A, B, C e D de água de coco.



Fonte: A autora (2015).

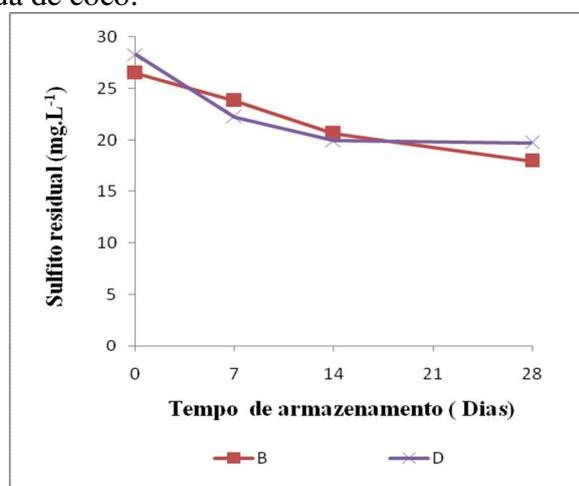
O processamento térmico é um dos métodos de conservação mais amplamente utilizados nas indústrias de alimentos, pois a alta temperatura pode levar à inativação microbiana e da atividade enzimática (AGUIAR, YAMASHITA; GUT, 2012).

Não houve diferença estatística entre os tratamentos e no decorrer do tempo, sugerindo que a aplicação do tratamento térmico foi eficaz em inativar a atividade destas enzimas.

Com relação ao teor de sulfito residual, foi feita a análise apenas para os tratamentos B e D, que foram adicionadas de sulfito. Observou-se um decréscimo no decorrer do armazenamento, em que os dois tratamentos estudados apresentaram declínio em torno de 30% dos seus valores iniciais. O tratamento D (110°C/8s) exibiu queda do teor de sulfito mais acentuada até o 14º dia de armazenamento e se manteve praticamente constante até o 28º dia, final do armazenamento em temperatura ambiente 28°C ±2°C (Figura 11).

Admite-se que dois terços do produto adicionado permanecem na forma livre e um terço se combina. Por isso a necessidade de avaliar o teor resultante, pois existe uma variação neste percentual de combinação devido ao pH e a quantidade de substâncias com as quais o dióxido de enxofre se combina tais como: etanol, ácidos cetônicos, açúcares e compostos fenólicos (RIBÉREAU-GAYON *et al.* 2003; RUIZ-CAPILLAS; JIMÉNEZ-COLMENERO, 2009). A reatividade do dióxido de enxofre (SO₂) é muito alta, durante a estocagem e tratamento térmico frequentemente ocorrem perdas consideráveis (BOGH-SORENSEN, 1997).

Figura 11- Variação do teor de sulfito em função do tempo de armazenamento de 28 dias para os tratamentos B e D de água de coco.



Fonte: A autora (2015).

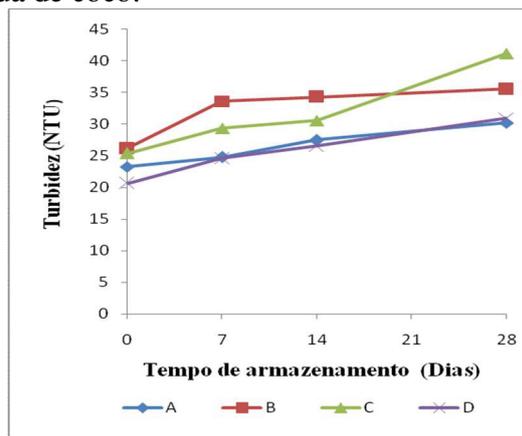
Costa (2002), avaliando a quantidade de dióxido de enxofre em polpa de cupuaçu *in natura*, observou decréscimo de mais de 80% ao longo de 20 dias de armazenamento a temperatura ambiente.

Coskun *et al.* (2013) investigaram diferentes métodos de sulfatação e a remoção do SO₂ em abacates armazenados a 5°C, 20°C e 30°C durante um ano. Os autores constataram queda de 9%, 51% e 90%, para a estocagem em 5°C, 20°C e 30°C, respectivamente,

mostrando assim que a temperatura de armazenamento também é fator determinante para a degradação do sulfito em alimentos.

Quanto à análise da turbidez da água de coco, não houve diferença estatística significativa entre os tratamentos no decorrer do tempo, mas verificou-se aumento da turbidez para todos os tratamentos analisados (Figura 12).

Figura 12- Variação da turbidez função do tempo de armazenamento de 28 dias para os tratamentos A,B, C e D de água de coco.



Fonte: A autora (2015).

A amostra C (110°C/8s sem sulfito) apresentou maior valor médio ao final do armazenamento, sugerindo contaminação microbiológica, por se tratar de uma amostra subprocessada, ou seja, que não foi submetida ao processo UHT propriamente dito, além de ter permanecido sob temperatura ambiente (28°C±2°C).

Murasaki (2005) encontrou comportamento similar para a turbidez da água de coco processada termicamente (90°C/120s) e observou que o tempo de armazenamento ambiente não influenciou na turbidez das amostras.

Leber (2001) avaliou as alterações da turbidez da água de coco refrigerada e congelada ao longo da estocagem. Com o passar do tempo de armazenamento, verificou-se o aumento da turbidez do produto. A água de coco foi se tornando mais turva devido às transformações físico-químicas ocorridas, como agregação de proteínas e também atuação das enzimas nos compostos fenólicos ou contaminação microbiológica.

1.3.4 Experimento 4: Análise sensorial da água de coco processada por UHT

Quanto à análise sensorial, em escala hedônica, dos três tratamentos (controle, 136°C/9s e 142°C/4s), foi verificada diferença significativa ($P \leq 0,05$) na aceitação global dos três tratamentos.

A água de coco controle apresentou média de 7,75, estando entre os termos hedônicos 'gostei moderadamente' e 'gostei muito', enquanto os tratamentos térmicos não apresentaram diferença estatística, com médias de 5,00 e 5,17, para a amostra processada a 136°C/9s e 142°C/4s, respectivamente (Tabela 7).

Os valores médios se situaram na zona positiva da escala hedônica, que se refere ao conceito 'nem gostei, nem desgostei' e 'gostei ligeiramente'.

Tabela 7 - Valores médios para o atributo aceitação global das águas de coco controle e esterilizadas por UHT.

	Médias*
	Aceitação Global
Controle (<i>In natura</i>)	7,75 ^a
136°C/9s	5,00 ^b
142°C/4,1s	5,17 ^b

*Valores na mesma coluna seguidos da mesma letra não diferem significativamente entre si ao nível de 5% ($p \leq 0,05$).

O maior valor médio para a amostra de água de coco *in natura* já era esperado, visto que a amostra não passou por tratamento térmico, não existindo alterações das características sensoriais, sendo assim os seus atributos, principalmente o de sabor foram conservados.

Amaral *et al.* (2012) e Nogueira *et al.* (2004) encontraram comportamento semelhante ao dessa pesquisa ao analisar a aceitação de água de coco *in natura* e água de coco submetida a tratamento térmico. Os autores verificaram maiores valores médios para água de coco controle. A aceitabilidade da água de coco está diretamente relacionada com os atributos de qualidade, tais como a doçura, a turbidez e, conseqüentemente, com o sabor agradável (MINIM, 2006).

Quanto à segunda etapa da análise sensorial, referente à aplicação do teste *free list*, em que os provadores definiram descritores relacionados às amostras processadas, verificou-se a formação de 40 termos para aroma e sabor.

Na reunião com a equipe treinada de 13 provadores, o número de termos foi reduzido para 12 com relação ao aroma e 8 termos foram fixados para o sabor da água de coco (Tabela 8).

Tabela 8 - Termos gerados pela equipe de provadores treinados para aroma e o sabor da água de coco, através do *free list*.

TERMOS GERADOS			
Aroma	Tratamentos Correspondentes	Sabor	Tratamentos Correspondentes
Água de coco natural	Controle	Coco	Controle/UHT
Frutal	Controle/UHT	Adstringente	Controle/UHT
Doce	Controle/UHT	Coco seco	UHT
Cozido	UHT	Fermentado	UHT
Estranho	UHT	Cozido	UHT
Água de coco bem passado	UHT	Estranho	UHT
Casca	UHT	Rapadura	UHT
Ferrugem	UHT	Velho	UHT
Açúcar mascavo	UHT		
Cana de açúcar	UHT		
Mel	UHT		
Água de milho em conserva	UHT		

Fonte: A autora (2015).

Vale salientar que as denominações `água de coco natural_, `frutal_ e `doce_ apareceram predominantemente para água de coco controle, com destaque para o termo `água de coco natural_ que foi observado somente nessa amostra. Os demais termos de aroma foram verificados somente na água de coco esterilizada.

Abreu *et al.* (2005) avaliaram o perfil sensorial de água de coco de três marcas comerciais (refrigerada, congelada e esterilizada) e relataram termos gerados, tais como: aroma pútrido, gosto doce e sabor de coco passado, termos similares a alguns encontrados nesse estudo para a água de coco esterilizada por UHT.

Luvielmo *et al.* (2004) estudaram o perfil sensorial de águas de coco congelada, pasteurizada por processo convencional e pasteurizada em microondas. Os autores observaram que os tratamentos de água de coco analisados diferiram quanto aos atributos julgados, sendo que a amostra processada por pasteurização convencional evidenciou claramente a maior intensidade dos atributos de aroma e sabor passado e aroma de ranço. Foram gerados os termos: aroma típico de água de coco verde; aroma doce; aroma passado; sabor típico de água de coco verde e sabor passado, equivalente aos determinados nesta pesquisa.

1.4 CONCLUSÕES

A cor rosada que surge na água de coco não é devido a atividade das enzimas polifenoloxidase e peroxidase.

O uso do processo UHT (Ultra High Temperature) associado ou não à utilização de aditivos químicos inibiu a ação das enzimas polifenoloxidase e peroxidase presentes na água de coco.

Temperaturas de subprocessamento (110°C/4,1s e 120°C/4,1s) favoreceram o surgimento da coloração rosada.

A adição de sulfito foi eficaz em evitar a coloração rosada água de coco em temperatura de esterilização.

Quanto à análise sensorial, concluiu-se que os dois tratamentos de água coco submetidos a UHT (135°C/9s e 142°C/ 4s) não apresentaram diferença estatística significativa, mas diferiram do tratamento controle (sem processamento térmico).

REFERÊNCIAS

- ABREU, L. F. **Avaliação e adaptação de sistema asséptico para obtenção de água de coco (*Cocos nucifera* L.) acondicionada em embalagens plásticas**. 2005. 219 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.
- ABREU, L. F. *et al.* Perfil sensorial e aceitabilidade de amostras de água de coco obtidas por diferentes processos de fabricação. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, Curitiba, v.23, n.2, p.397-412, 2005.
- AGÊNCIA BRASIL. **Água de coco do Brasil começa a ganhar o mundo**. Entrevista de 17/03/2004. <http://memoria.etc.com.br/agenciabrasil/noticia/2004-03-17/agua-de-coco-do-brasil-comeca-ganhar-mundo>. 30 mar. 2016.
- AGUIAR, H.D.F.; YAMASHITA, A.S.; GUT, J.A W. Development of enzymatic time-temperature integrators with rapid detection for evaluation of continuous HTST pasteurization processes, **LWT - Food Science and Technology**, [S.l.] v. 47, n.1, p.110-116, 2012
- AMARAL, D. S.; PESSOA, T.; DANTAS, L.I.S.; MEDEIROS, S.S.S.S. Elaboração de água de coco congelada e avaliação das características físico-químicas, microbiológicas e sensoriais. **Revista Verde**, Pombal, PB, v.7, n.1, p. 177 - 181, 2012.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY - **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemistry**. 16 ed. Washington, D. C: [s.n],1995. 1141p.
- AOAC - ASSOCIATION OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY. **AOAC official methods of analysis**. Arlington: AOAC International, 18 ed. Washington DC, 2006. p.28-34.
- ARAGÃO, W. M.; ISBERNER, I. V.; CRUZ, E. M. O. *Água de coco*. Aracaju: Embrapa CPATC/ Tabuleiros Costeiros,2001. (Série Documentos 24).
- BOGH-SORENSEN, L. Description of hurdles. *In*: LEISTNER, L., GORRIS, L.G.M. **Food preservation by combined processes**. final report, FLAIR Concerted Action No 7,1997. p. 8-25.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa n.27, de 22 de julho de 2009. Estabelece os procedimentos mínimos de controle higiênico-sanitário, padrões de identidade e características mínimas de qualidade gerais para a água de coco. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 23 jul. 2009. Seção 1, p.6
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 8, de 06 de março de 2013. Aprova o uso de aditivos alimentares para produtos de frutas e de vegetais e geléia de mocotó. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 06 mar. 2013. Disponível em: < portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/1cac3e004edacb17a9e8ab8a610f4177 >. Acesso em: 25 jan. 2014.

- CAMPOS, C. F. *et al.* Chemical composition, enzyme activity and effect of enzyme inactivation on flavor quality of green coconut water. **Journal Food Processing Preservation**, College Park , v. 20, n. 6, p. 487-500, 1996.
- CHOWDHURY, M.G.F. *et al.* Processing and preservation of green coconut water. **Journal Innovation and Development Strategy**, [S.l.] v. 3, n. 1, p. 1-5, 2009.
- COSTA, M.C. **Conservação de polpa de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) por métodos combinados com emprego da tecnologia de obstáculos**. 2002. 114f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2002.
- COHKUN, A.L. *et al.* Effects of various sulphuring methods and storage temperatures on the physical and chemical quality of dried apricots. **Food Chemistry**, [S.l.] v. 141, n. 4, p. 3670-3680, 2013.
- DAMAR, S. **Processing of coconut water with high pressure carbon dioxide technology**. 2006. 175f. Tese (Doutorado em Filosofia) - University of Florida, Florida. 2006.
- DELFIYA, A. D. S; THANGAVEL, K. Effect of Ohmic Heating on Polyphenol Oxidase Activity, Electrical and Physicochemical Properties of Fresh Tender Coconut Water. **International Journal of Food Engineering**. DOI: [10.1515/ijfe-2015-0329](https://doi.org/10.1515/ijfe-2015-0329), 2016.
- FOOD AND DRUG ADMINISTRATION -Canning Regulations. (Ed). Canned Foods: Principles of Thermal Process Control Acidification and Container Closure Evaluation. 7ed. Washington: GMA Science and Education Foundation, 2007. 193 p.
- HOFFMANN, F. L. *et al.* Qualidade microbiológica de amostras de água de coco vendidas por ambulantes na cidade de São José do Rio Preto -SP. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.16, n.97, p. 87, 2002.
- HOUGH, G., FERRARIS, D. Free listing: A method to gain initial insight of a food category. *In*: THE 9TH SENSOMETRICS Meeting. Sensometrics 2008. St. Catherine: Sensometrics Society, 2008.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 6. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.1020p.
- LEBER, A. S. M. L. **Avaliação da estabilidade de água de coco (*Cocos nucifera*) em garrafas de polietileno tereftalato (PET) estocadascongelada e refrigerada**. 2001. 151 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, 2001.
- LUVIELMO, M. D. M. Influência do processamento nas características sensoriais da água de coco. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 22, n. 2, p. 253 -270, 2004.
- MEILGAARD, M.; CIVILLE, G.V.; CARR, B.T. **Sensory evaluation techniques**. 3 ed. Boca Raton: CRC, 1999. 390p.

MINIM, V.P.R. **Análise Sensorial estudos com consumidores**. Viçosa, MG: UFV, 2006. 225p.

MURASAKI, N. C. **Cinética da inativação térmica da peroxidase e da polifenoloxidase presentes na água de coco verde por processo térmico contínuo**. 2005. 78f. Dissertação (Mestrado em Engenharia) - Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

NOGUEIRA, A. L. C. *et al.* Avaliação sensorial de água de coco (*Cocos nucifera* L) *in natura* e processada. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v.4, n.2; p. 1-5, 2004.

PEREIRA, E.P.R.; FARIA, J.D.A; PINTO, U.M. Optimizing the use of potassium sorbate and sodium metabisulfite for the chemical and microbial stability of carbonated coconut water. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, SP, v.16, n. 1, p. 125-132, 2013.

PFLUG, I.J.; ODLAUG, T.E.; CHRISTENSEN, R. Computing a minimum public health sterilizing value for food with pH values from 4.6 to 6.0. **Journal of Food Protection**, v., 48, n. 10, p. 848-850, 1985.

PONTING, J.D.; JOSLYN, M.A. Ascorbic acid oxidation and browning in apple tissue extracts. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, Philadelphia, v. 19 n. 1, p. 47-63 1948.

RIBÉREAU-GAYON, P. *et al.* **Tratado de enologia. Tomo 1. Microbiologia del vino. Vinificaciones**. 1ª ed. Buenos Aires: Hemisferio Sur. 2003. 636p.

ROSA, M. F.; ABREU, F. A. P. **Água de coco - Métodos de Conservação**. Fortaleza: SEBRAE/CE, EMBRAPA, 2000. 42 p.

RUIZ-CAPILLAS, F.; JIMÉNEZ-COLMENERO. Application of flow injection analysis for determining sulphites in food and beverages: A review. **Food Chemistry**, [Washington], v. 112, p. 487-493, 2009.

SILVA, F. V. G.; MAIA, G. A.; DE SOUSA, P. H. M.; DA SILVA LIMA, A.; DA COSTA, J. M. C.; FIGUEIREDO, E. A. T. Avaliação da estabilidade de bebida mista elaborada com água de coco e suco de maracujá. **Acta Scientiarum. Technology**, v. 28, n. 2, p. 191-197, 2008.

SMITH, P. G. Introduction to food process engineering. USA: Kluwer Academic/Plenum Publishers. 2003. 466 p.

CAPÍTULO 2*

EFEITO DOS PARÂMETROS DE ESTERILIZAÇÃO UHT E DO USO DE SULFITO NA QUALIDADE DA ÁGUA DE COCO PROCESSADA

RESUMO:

O mercado de água de coco (*Cocus nucifera* L.) está em constante crescimento, por se tratar de uma bebida refrescante e natural. Aliado a isso, procuram-se desenvolver processos para conservar este alimento, sendo o processo de esterilização UHT (Ultra High Temperature) o de maior impacto econômico para este setor. Em longo período de armazenamento podem ocorrer transformações na cor e na qualidade do produto, causando uma impressão desagradável sobre o seu aspecto visual, que influencia a aceitação do consumidor. O objetivo deste estudo foi otimizar as condições de processamento, incluindo temperatura, tempo de retenção e teor de sulfito adicionado. Um delineamento composto central rotacional (DCCR) foi utilizado, tendo como variáveis independente a temperatura (128°C a 142°C), tempo de retenção (4 a 14 segundos) e adição de sulfito (0 a 50 mg.L⁻¹), e as análises físico-químicas, enzimáticas e de cor como variáveis dependentes. Cor, atividade enzimática e turbidez foram realizadas em 24 h e após 45 dias de armazenamento a 25°C. Os resultados após um dia de armazenamento mostraram efeito significativo ($P < 0,05$ e $R^2 = 0,95$) para a variável sulfito residual que se correlacionou positivamente com a quantidade inicial adicionada, diminuindo cerca de 20%. Para esse parâmetro foi possível gerar um modelo de superfície de resposta. Após 45 dias, verificou-se que as respostas para o valor de b^* e sulfito mostraram efeito significativo em relação à temperatura e teor de sulfito adicionado, respectivamente. A água de coco antes do processamento apresentou baixa atividade de polifenoloxidase e nenhuma atividade da peroxidase, sendo inativada nos ensaios de processamento UHT. Logo após o processamento térmico o teor de sulfito adicionado à água de coco foi a única variável que apresentou influência sobre o sulfito residual. As temperaturas de processo UHT foram eficazes na inativação da polifenoloxidase durante o armazenamento de 45 dias, no entanto houve um efeito significativo sobre a cor, para a variável dependente b^* e o teor de sulfito residual.

Palavras-chave: Processo UHT, DCCR, Sulfito.

*Artigo publicado no periódico Chemical Engineering Transactions

2.1 INTRODUÇÃO

A água de coco é comercializada na forma de fruto *in natura*, acarretando problemas relacionados ao transporte e armazenamento, dificultando principalmente a sua exportação (MATSUI, 2006). Deve ser consumida como bebida no momento da abertura do fruto porque em contato com oxigênio, além de ficar exposta a ação de micro-organismos presentes no ambiente, suas enzimas peroxidase (POD) e polifenoloxidase (PPO) provocam alterações indesejáveis, que afetam a sua coloração, valor nutricional e sabor (ROSA; ABREU, 2002), bem como pode ocorrer o surgimento de uma coloração rosada no decorrer do armazenamento, gerando rejeição pelos consumidores.

O processo *Ultra High Temperature* (UHT) é eficiente quanto à redução microbiológica e enzimática, no entanto, alterações sensoriais e nutricionais normalmente são apresentadas, o que compromete a qualidade e a aceitação do produto final (CAMPOS *et al.*, 1996; ROSA; ABREU, 2000).

A esterilização associada ao uso de aditivos químicos tem sido adotada pela indústria com a intenção de aumentar a vida de prateleira do produto. Os sulfitos são amplamente utilizados para evitar o escurecimento causado por reações enzimáticas ou oxidativas, mas devido aos seus efeitos adversos à saúde, a World Health Organization (WHO) limita a utilização de dióxido de enxofre (SO₂) em produtos alimentícios processados a uma dose diária máxima de 0,7 mg.kg⁻¹ de massa corporal (QUEIROZ *et al.*, 2008) e a legislação brasileira através da RDC n° 08 de 06 de março de 2013 estabelece o limite de 0,005 g de SO₂ residual em 100 mL de água de coco (BRASIL, 2013).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito dos parâmetros da esterilização UHT (temperatura e tempo de retenção) e o teor de sulfito adicionado na qualidade da água de coco após processo e estocagem por 24h e 45 dias.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1 Materiais

Foram utilizados cocos verdes (*Cocos nucifera L.*), variedade Anão verde do Jequi, estádio de maturação 6 (entre o sexto e sétimo mês de maturação), oriundos do Perímetro Irrigado Curu-Paraipaba-CE. Foi empregado o aditivo metabissulfito de sódio (marca Vetec, Rio de Janeiro, Brasil).

Antes da extração os cocos foram higienizados em solução clorada, seguido do corte dos cocos para extração da água, usando máquina de corte. A água de coco apresentou 6,3° Brix e pH médio de 5,0 e, portanto, não foi necessária correção de Brix (6,0 ou maior) e pH (5,0 ou menor) de acordo com valores baseados na tese de Abreu (2005). O processo de esterilização UHT utilizou temperaturas entre 128 °C e 142°C, com vazão controlada para obter tempo de retenção de 4 a 14 segundos, utilizando um trocador de calor tubular, com vazão nominal de 20 L/h, da marca Armfield, modelo FT74, seguido de resfriamento rápido, utilizando um sistema de refrigeração que faz recirculação de água gelada (chiller) da marca Armfield FT63, e envase em condições assépticas.

2.2.2 Análises da água de coco

O pH foi medido conforme metodologia da AOAC (1995). Acidez titulável e sólidos solúveis de acordo com as normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz (2008). As medidas de cor foram realizadas em Colorímetro Konica Minolta, modelo CR 400, utilizando o sistema de cor CIELAB, sendo determinados os parâmetros L*, a*, b*. As atividades das enzimas polifenoloxidase (PPO) e peroxidase (POD) foram realizadas de acordo com o método adaptado por Campos *et al.* (1996), usando catecol como substrato para PPO e atividade da peroxidase utilizando guaiacol como substrato. A leitura foi realizada em espectrofotômetro UV/ Visível (Biospectro) e feito o cálculo da atividade enzimática, expressos em Unidade de Atividade Enzimática (UAE) por mL de solução. A turbidez foi medida através de Turbidímetro digital de bancada Tecnopeon TB-1000. Os procedimentos utilizados para a análise quantitativa de sulfitos foi por meio do método M-W otimizado e seguiram as normas preconizadas por AOAC (2006), 990.28. A amostra de água de coco submetida a reação com ácido clorídrico sob aquecimento durante duas horas, na presença de corrente de nitrogênio a uma menor vazão possível, de modo que houvesse pressão positiva no sistema. Os gases de enxofre formados foram condensados e colhidos em balões com peróxido de hidrogênio 3%, resultando em ácido sulfúrico (H₂SO₄). Os balões estavam em baixa temperatura (banho de gelo) e foram destilados em sistema de refluxo. Após termino da digestão ácida, o condensado presente nos balões (H₂SO₄) foi titulado com hidróxido de sódio e efetuado o cálculo para expressão do resultado de sulfito contido na amostra.

2.2.3 Delineamento Experimental

Os principais parâmetros do processo foram avaliados através de um Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) 2^3 com 8 pontos fatoriais, 6 pontos axiais e 3 repetições do ponto central, totalizando 17 ensaios. Foram utilizadas três variáveis independentes (temperatura, tempo de retenção e concentração de sulfito) e dez variáveis dependentes (pH, SS, acidez, L^* , a^* , b^* , PPO, POD, SO_2 , Turbidez). Os limites escolhidos para tempo de retenção e temperatura foram baseados em testes preliminares e taxa de letalidade do processo UHT (valor de F_0), enquanto que as quantidades de sulfito levaram em consideração a legislação vigente, que preconiza valor máximo de $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (Brasil, 2013). Os resultados foram analisados através do software *Statistica 7.0* para o cálculo dos coeficientes de regressão, análise de variância (ANOVA) e superfície de respostas, sendo estabelecido o nível de significância de 5%.

Os níveis utilizados () no planejamento estatístico são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 - Variáveis e níveis do planejamento experimental completo 2^3 .

Variáveis independentes	Níveis				
	-1,68	-1,00	0	+1,00	1,68
Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	128,0	131,0	135,0	139,0	142,0
Tempo de residência (s)	4,0	6,0	9,0	12,0	14,0
SO_2 livre ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	0	10	25	40	50

2.3 RESULTADOS

Os resultados das análises da água de coco *in natura* indicaram valor de pH 5,01, sólidos solúveis de $6,5^{\circ}\text{Brix}$, acidez titulável de $0,13 \text{ g} \cdot 100 \text{ mL}^{-1}$ expressos em ácido málico. Com esses resultados, não foi necessária a correção de Brix (6,0 ou maior) e pH (5,0 ou menor) de acordo com valores de Abreu (2005). A atividade da enzima polifenoloxidase (PPO) foi de $4,23 \text{ UAE} \cdot \text{mL}^{-1}$, com ausência de atividade da enzima peroxidase. Na sequência são apresentados e discutidos os resultados obtidos no DCCR em análises efetuadas após processamento UHT e estocagem por 45 dias em temperatura ambiente ($28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$).

2.3.1 Efeito do processo UHT na água de coco após 24 h de armazenamento

Os resultados das análises de pH e sólidos solúveis da água de coco após processo UHT não apresentaram diferenças (Tabela 2), bem como as atividades das enzimas PPO e POD, que se mantiveram próximas a zero para a maioria dos ensaios.

Tabela 2 - Resultados do DCCR de água de coco 24h após o processamento UHT

Ensaio	x ₁	x ₂	x ₃	pH	SST	Acidez	L*	a*	b*	PPO	POD	SO ₂ (*)	TB(**)
1	-1	-1	-1	5,61	6,43	0,15	45,15	0,10	1,33	0,0	0,0	6,4	18,6
2	+1	-1	-1	5,71	5,90	0,13	45,06	-0,03	0,60	0,0	0,0	8,0	18,5
3	-1	+1	-1	5,13	5,90	0,21	44,21	0,15	0,62	0,0	0,0	8,0	22,8
4	+1	+1	-1	5,14	5,90	0,17	43,75	0,17	0,83	0,0	0,0	8,0	33,6
5	-1	-1	+1	5,64	6,50	0,19	45,28	0,03	1,89	0,0	0,0	21,3	18,8
6	+1	-1	+1	5,63	6,27	0,21	44,67	0,05	1,19	0,0	0,0	33,1	18,1
7	-1	+1	+1	5,12	5,90	0,25	43,78	-0,03	1,23	0,0	0,0	32,0	22,6
8	+1	+1	+1	5,11	5,97	0,27	43,97	0,08	0,88	0,0	0,1	29,9	22,9
9	-1,68	0	0	5,70	6,03	0,17	44,07	-0,08	1,71	0,0	0,0	18,1	17,0
10	+1,68	0	0	5,68	6,40	0,17	44,53	-0,02	1,42	0,0	0,1	13,9	17,9
11	0	-1,68	0	5,16	6,40	0,23	44,70	0,27	0,70	0,0	0,1	20,3	23,9
12	0	+1,68	0	5,12	5,90	0,21	43,79	0,12	0,87	0,0	0,0	18,1	23,7
13	0	0	-1,68	5,68	5,80	0,13	44,30	-0,01	0,70	0,0	0,0	0,0	22,0
14	0	0	+1,68	5,61	5,80	0,17	45,02	-0,03	1,06	0,0	0,0	34,7	20,7
15	0	0	0	5,61	6,00	0,13	45,23	0,02	0,27	0,0	0,0	16,5	21,2
16	0	0	0	5,13	6,50	0,25	44,80	0,22	0,86	0,0	0,0	22,4	22,4
17	0	0	0	5,13	6,53	0,26	44,80	0,22	0,78	0,0	0,0	22,9	22,0
Controle	Sem tratamento			5,01	6,50	0,13	44,63	0,12	-0,16	4,23	0,0	0,0	22,1

OBS: Os resultados representam a média de três determinações.

(*) Teor de sulfito residual; (**) Turbidez (NTU). As variáveis independentes e níveis () utilizados, foram: x₁= temperatura (128; 131; 135; 139 e 142°C); x₂= tempo (4; 6; 9; 12 e 14 segundos); x₃= teor de sulfito adicionado (0; 10; 25; 40 e 50 mg.L⁻¹)

Na água de coco *in natura* quantificou-se atividade enzimática, comportamento semelhante foi observado por Abreu e Faria (2007), que constatarem 2,33 U.mL⁻¹ de atividade para a PPO. Dessa forma, verifica-se a eficiência dos diversos tratamentos UHT na inativação da PPO, tanto para tratamentos com adição de sulfito quanto na ausência deste aditivo.

Os resultados do DCCR mostraram efeito significativo somente para a variável independente teor de sulfito adicionado ($P < 0.05$ e $R^2 = 0,95$). Os valores médios de sulfito residual foram proporcionais apenas ao teor inicial, com redução aproximada de 25% em relação ao sulfito originalmente adicionado, não sendo significativos os efeitos da temperatura ou tempo de retenção do processo UHT. A análise de variância (ANOVA) para teor de sulfito residual (SO₂ residual) foi realizada eliminando-se os parâmetros não significativos ($P > 0,05$) e os resultados são apresentados na Tabela 3.

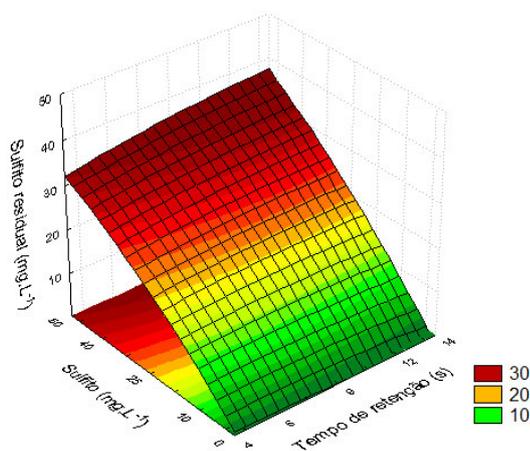
Tabela 3 - Análise de variância (ANOVA) para o teor de sulfito residual (TSR) da água de coco.

Fator	SS	DF	MS	F _{calc.}	F _{tab}
Regressão	1522,26	1	1522,26	148,27	4,54
Resíduo	153,99	15	10,27		
Total	1676,26	16			

$$R^2 = 0,95; R^2_{\text{ajustado}} = 0,92.$$

Como o valor de F calculado para a regressão é altamente significativo e a porcentagem de variação explicada pelo modelo foi muito boa, cerca de 91%, podemos concluir que o modelo se ajusta bem aos dados experimentais, permitindo a construção da superfície de resposta (Figura 1).

Figura 1 - Superfície de resposta para sulfito residual.



Fonte: A autora (2015)

O modelo com as variáveis codificadas que representa o teor de sulfito residual em mg.L^{-1} em função do tempo de retenção e do sulfito adicionado a água de coco, na faixa estudada, está demonstrado abaixo:

$$\text{Residual SO}_2 = 0,74x_3 + 0,82 \quad (1)$$

Os parâmetros, como cor (L^* , a^* , b^*), turbidez, POD e PPO não indicaram efeito significativo ($P > 0,05$) ou apresentaram coeficiente de determinação (R^2) inferior a 0,8. Assim, não foi possível a obtenção de modelos estatísticos, todavia pode-se verificar, pela análise dos dados individuais, uma tendência ao escurecimento da amostra (menor valor de L^*), com o aumento do tempo de retenção; menores valores de a^* com o aumento da temperatura do processo; assim como maiores valores do parâmetro b^* com o aumento do teor de sulfito. Os resultados de análises e também as observações visuais efetuadas não

indicaram alterações perceptíveis exceto em relação à turbidez de amostras do quarto ensaio, que apresentou maior turbidez, de 33,88 Ntu, mas não foi possível relacionar com os parâmetros do tratamento UHT ou com a adição de sulfito. Os valores de turbidez variaram de 17 a 33 Ntu, comparáveis aos obtidos no estudo de Pereira, Faria e Pinto (2013), que observaram valores médios de 33,88 para turbidez, pouco superiores aos encontrados nesse estudo.

2.3.2 Efeito do processo UHT na água de coco após 45 dias de armazenamento

Após 45 dias de armazenamento sob temperatura ambiente, a água de coco processada por UHT apresentou poucas alterações, e os resultados das análises podem ser observados na Tabela 5, sendo significativos apenas os parâmetros cor (b^*) e sulfito residual. Nestes resultados, de forma geral observa-se que a turbidez aumentou com o período de estocagem, passando da faixa de 17 a 33 Ntu para 24 a 74 Ntu, mas sem relacionar significativamente a um dos parâmetros do processo UHT. O mesmo comportamento ocorreu em relação ao parâmetro luminosidade (L^*), que diminuiu em alguns dos ensaios, indicando tendência a leve escurecimento. Com relação às enzimas PPO e POD, apenas em alguns ensaios apresentaram atividade, mas ainda assim menor que $1,2 \text{ UAE.mL}^{-1}$, não indicando uma reativação das enzimas, e concordando com o encontrado por Pereira, Faria e Pinto, (2013) ao analisar a água de coco carbonatada e adicionada de metabissulfito de sódio e sorbato de potássio em diferentes concentrações, indicando que o processo térmico aplicado às amostras foi suficiente para inativar as enzimas. Murasaki-Aliberti *et al.* (2009) avaliaram o processamento térmico UHT com tempos de retenção mais curtos e verificaram menores perdas nutricionais e sensoriais da água de coco e promoveu 90% de inativação enzimática para polifenoxidase e peroxidase. Os valores do parâmetro de cor b^* e SO_2 exibiram efeito significativo nas respostas após 45 dias de estocagem, e coeficiente de determinação elevados (0,85 e 0,86, respectivamente). Foi possível elaborar a análise de variância (ANOVA) apresentada na Tabela 5, com a incorporação dos termos não significativos ($P > 0.05$) para o resíduo, obtendo-se F calculado 5 e 6 vezes maior que F tabelado para os parâmetros b^* e SO_2 , respectivamente, sendo possível gerar modelo estatístico conforme as equações 2 e 3, onde x_1 e x_3 são as variáveis codificadas; temperatura de processo UHT e o teor inicial de sulfito adicionado, respectivamente.

$$b^* = 0,05 x_1^2 - 13,5 x_1 + 912,05 \quad (2)$$

$$\text{Teor de sulfito residual} = 0,398 x_3 + 3,21 \quad (3)$$

Tabela 4 - Resultados DCCR de águas de coco esterilizada por UHT, após 45 dias de processamento.

Ensaio	x ₁	x ₂	x ₃	L*	a*	b*	PPO	POD	SO ₂	TB
1	-1	-1	-1	47,22	-0,11	2,57	0,40	0,00	4,80	55,77
2	1	-1	-1	25,71	-0,14	0,59	0,10	0,00	5,34	24,27
3	-1	1	-1	45,39	-0,31	0,95	0,00	0,13	8,54	52,27
4	1	1	-1	45,81	-0,37	1,13	0,00	0,67	9,07	46,77
5	-1	-1	1	46,54	0,08	2,59	0,00	0,00	13,88	23,47
6	1	-1	1	46,35	-0,27	2,30	0,00	0,00	10,67	30,40
7	-1	1	1	44,83	-0,09	0,87	0,00	0,00	29,89	37,47
8	1	1	1	44,85	-0,39	1,65	0,30	0,00	14,94	41,20
9	-1,68	0	0	45,12	-0,17	3,47	0,03	0,00	14,94	31,07
10	1,68	0	0	46,84	-0,06	2,73	0,00	0,00	13,87	74,30
11	0	-1,68	0	43,67	0,13	0,47	0,00	1,00	14,94	43,90
12	0	1,68	0	44,33	-0,29	1,09	0,50	0,00	13,33	34,40
13	0	0	-1,68	25,61	-0,09	0,56	1,20	0,00	0,00	25,83
14	0	0	1,68	25,60	-0,09	0,57	0,00	0,00	21,35	29,03
15	0	0	0	25,61	-0,07	0,57	0,00	0,23	16,01	33,63
16	0	0	0	44,40	-0,04	0,98	0,00	0,00	11,20	38,77
17	0	0	0	43,07	-0,11	1,46	0,00	0,00	12,81	39,70

OBS: Os resultados representam a média de três determinações.

(*) Teor de sulfito residual; (**) Turbidez (NTU); As variáveis independentes e níveis () utilizados, foram: x₁ = temperatura (128; 131; 135; 139 e 142°C); x₂ = tempo(4; 6; 9; 12 e 14 segundos); x₃ = teor de sulfito adicionado (0; 10; 25; 40,50 mg.L⁻¹)

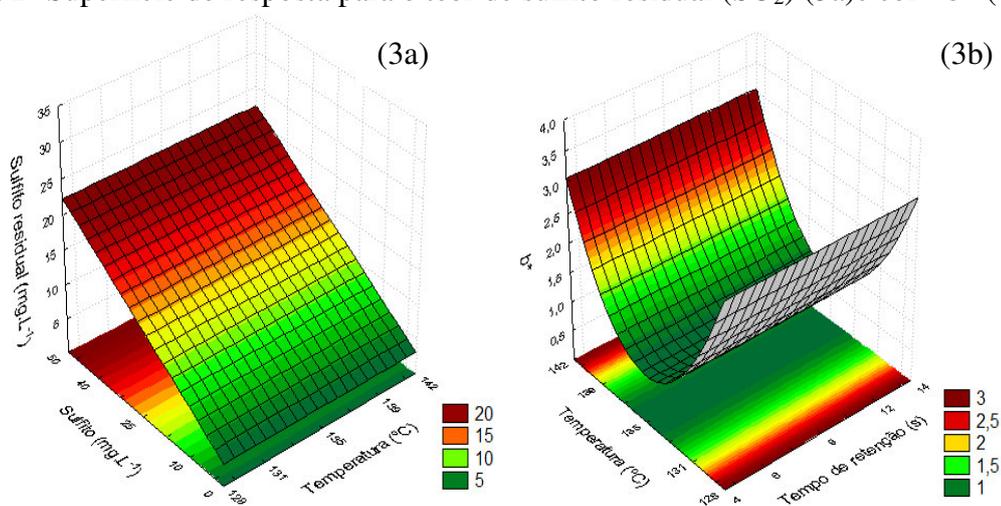
O parâmetro sulfito residual se correlacionou positivamente com o teor de sulfito adicionado inicialmente, comportamento semelhante ao verificado no tempo zero, porém observou-se um declínio médio de 45% no teor residual de sulfito após 45 dias de estocagem. O termo linear do teor de sulfito adicionado mostrou efeito significativo (P<0,05), sendo possível estabelecer um modelo matemático preditivo de 1ª ordem, descrito na equação 3. Foi possível gerar a superfície de resposta apresentada na Figura 2a, indicando que este parâmetro aumenta com maiores valores de sulfito adicionados à água de coco antes do processamento UHT. Os sulfitos são degradados por sua reatividade, ocorrendo grandes perdas durante a estocagem (LUCK; JAGER, 1997). Como volatiliza muito facilmente, o nível residual será muito menor que a quantidade originalmente aplicada (DEMAN, 1999).

Tabela 5 - Análise de variância (ANOVA) para cor (b*) e o teor de sulfito residual (TSR) da água de coco 45 dias após processo.

Fator	SS		DF	QM		F _{calc}		F _{tab}
	b*	SO ₂		b*	SO ₂	b*	SO ₂	
Regressão	8,40	440,21	1	8,40	440,21	22,07	24,09	4,54
Resíduo	5,71	274,00	15	0,38	18,26			
Total	14,11	714,21	16					
R ²	0,85	0,86						
R ² _{ajustado}	0,59	0,62						

A temperatura de processo UHT também foi parâmetro significativo ($P < 0,05$) para as medidas de cor, no parâmetro b^* , como apresentado na Figura 2b, indicando que em temperaturas mais elevadas a água de coco exibiu maiores valores de b^* , tendendo ao amarelo. Esse resultado é coerente com o indicado por Remacha *et al.* (1992), indicando que amostras expostas a altas temperaturas ficam susceptíveis ao escurecimento durante o armazenamento. As outras variáveis estudadas L^* , a^* , PPO, POD, e turbidez (TB), apresentaram resultados não significativos ($P > 0,05$) e coeficiente de determinação R^2 inferior a 0,80.

Figura 2- Superfície de resposta para o teor de sulfito residual (SO_2) (3a) e cor - b^* (3b).



Fonte: A autora (2015).

2.4 CONCLUSÕES

O teor de sulfito adicionado à água de coco foi a única variável que exerceu efeito significativo e se correlacionou com o teor de sulfito residual após 24 h do processamento térmico.

Para a estocagem após 45 dias, verificou-se efeito significativo para a variável dependente b^* e teor de sulfito residual.

Não houve otimização do processo UHT, mas este foi eficiente para reduzir a atividade da enzima polifenoloxidase durante o tempo de armazenamento, sendo o binômio do ponto central do planejamento ($135^\circ\text{C}/9\text{s}$) a condição mais indicada, com teor de sulfito variando de 20 mg.L^{-1} a 40 mg.L^{-1} , nas condições testadas.

REFERÊNCIAS

ABREU, L. F. **Avaliação e adaptação de sistema asséptico para obtenção de água de coco (*Cocos nucifera* L.) acondicionada em embalagens plásticas.** 2005. 219 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.

ABREU, L. F.; FARIA, J. A. F. Influência da temperatura e do ácido ascórbico sobre a estabilidade físico-química e atividade enzimática da água de coco (*Cocos nucifera* L.) acondicionada assepticamente. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 2, p. 226-232, 2007.

AOAC -ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY - **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemistry.** 16 ed. Washington, D. C,1995. 1141p.

ASSOCIATION OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY. **AOAC official methods of analysis.** Arlington: AOAC International, 18 ed. Washington DC, 2006. p.28-34.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 8, de 06 de março de 2013. Aprova o uso de aditivos alimentares para produtos de frutas e de vegetais e geléia de mocotó. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 06 mar. 2013. Disponível em: < [ortal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/1cac3e004edacb17a9e8ab8a610f4177](http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/1cac3e004edacb17a9e8ab8a610f4177) >. Acesso em: 25 jan. 2014.

CAMPOS, C. F. *et al.* Chemical composition, enzyme activity and effect of enzyme inactivation on flavor quality of green coconut water. **Journal Food Processing Preservation**, College Park , v. 20, n. 6, p. 487-500, 1996.

DEMAN, J.M. **Principles of Food Chemistry.** 3.ed. Maryland: Aspen Publisher, 1999.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos.** 6. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.1020p.

LÜCK, E.; JAGER, M. **Sulfur Dioxide, Chapter 12:** Antimicrobial Food Additives - characteristics, uses, effects. Berlin: Springer, Germany, 1997.

MATSUI, K.N. **Inativação das enzimas presentes na água de coco verde (*Cocos nucifera* L.) por processo térmico através de microondas.** 2006. 123f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

MURASAKI-ALIBERTI, N. D. C. Thermal inactivation of polyphenoloxidase and peroxidase in green coconut (*Cocos nucifera*) water. **International Journal of Food Science and Technology**, New Jersey, v. 4, n. 12, p. 2662-2668, 2009.

PEREIRA, E.P.R., FARIA, J.D.A, PINTO, U.M. Optimizing the use of potassium sorbate and sodium metabisulfite for the chemical and microbial stability of carbonated coconut water. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, SP, v.16, n. 1, p. 125-132, 2013.

QUEIROZ C. *et al.* Polyphenol Oxidase: Characteristics and mechanisms of browning control. **Food reviews international**, [New York], v. 24, n. 4, p. 361-375, 2008.

REMACHA, J.; IBARZ, A.; GINER, J. Evolución del color por efecto de la temperatura en pulpas de fruta. **Alimentaria**, [Madrid], v. 4, p. 59-68, 1992.

ROSA, M. F.; ABREU, F. A. P. **Água de coco: Métodos de Conservação**. Fortaleza: Sebrae/CE:Embrapa: Ceará, 2000. 42 p.

ROSA, M. F.; ABREU, F.A.P. Processos convencionais de conservação de água de coco. *In*: ARAGÃO, W. M. **COCO. Pós-colheita**. Brasília: Embrapa, 2002. Cap. 6, p. 42-53.

CAPÍTULO 3

AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE QUÍMICA, FÍSICO-QUÍMICA, ENZIMÁTICA E DE COR DA ÁGUA DE COCO DURANTE ARMAZENAMENTO DE 180 DIAS.

RESUMO

A água de coco é um produto bastante sensível, que sofre mudança de cor e alteração de sabor de acordo com o processamento e o tempo de armazenamento. A adição de sulfito é uma alternativa para inibir ou retardar o surgimento de uma coloração rosada na água de coco. O controle de qualidade é feito por meio da avaliação dos principais constituintes químicos sob a influência dos fatores mais importantes, tais como a temperatura e o teor de sulfito adicionado. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar a estabilidade química, físico-química e enzimática durante 180 dias da água de coco submetida ao processo de esterilização, com e sem adição de sulfito, bem como avaliar sensorialmente as amostras esterilizadas, sem e com a presença do sulfito. A água de coco foi esterilizada em processo UHT (136°C/8s) com e sem adição de sulfito (20 mg. L⁻¹). Foram realizadas análises de pH, SS, enzimas polifenoloxidase e peroxidase, turbidez, cor e sulfito residual a cada 30 dias, durante 180 dias. Foi realizada a análise sensorial 24h após processamento UHT, utilizando escala hedônica e *check all that apply* (CATA) a fim de observar quais descritores caracterizavam as amostras esterilizadas. Notou-se que as amostras de água de coco se mantiveram estáveis no decorrer do tempo de armazenamento, com exceção da turbidez e do parâmetro a*, que variaram linearmente durante os 180 dias de avaliação. Os tratamentos apresentaram baixa atividade enzimática da polifenoloxidase (PPO), e valores próximos de zero para a peroxidase (POD), tanto na presença ou ausência de sulfito, indicando que a temperatura de processo UHT foi suficiente para a inativação de ambas as enzimas. Não houve diferença estatística significativa nas notas sensoriais entre ambos os tratamentos, com predomínio de termos `sabor coco`, `coco seco`, `sabor rapadura`, `aroma frutal` e `sabor estranho`.

Palavras-chave: Vida de prateleira, UHT, cor.

3.1 INTRODUÇÃO

Água de coco é consumida como uma bebida refrescante devido às suas propriedades nutricionais e terapêuticas e repositores de eletrólitos. No entanto, é muito sensível à deterioração e se torna imprópria para consumo depois de um ou dois dias devido à contaminação externa por micro-organismos e devido a reações de oxidação que ocasiona perda de suas características sensoriais e nutricionais (REDDY; DAS; DAS, 2005).

Com o aumento da produção, a conservação através da esterilização é uma alternativa que amplia as possibilidades de comercialização do produto envasado.

A utilização de aditivos alimentares em diferentes países é limitada por regulamentos específicos estabelecidos com base na sua segurança para o uso e necessidades tecnológicas. O Brasil tem seguido as recomendações do Comitê FAO / OMS sobre a utilização segura de aditivos alimentares. Os dados nacionais relativos à quantidade de sulfitos, com base na medição de níveis residuais de sulfito em alimentos e bebidas, são escassos no Brasil (MACHADO *et al.*, 2008). É relevante salientar que a legislação brasileira permite limite máximo de 50 mg.L⁻¹ de sulfito residual (BRASIL, 2013).

Os níveis de sulfito tipicamente utilizados não refletem a concentração que existe realmente em um alimento no momento da ingestão, devido a perdas durante o processamento e armazenamento de alimentos tratados (TAYLOR; HIGLEY; BUSH, 1986).

Atualmente é crescente o uso da água de coco verde submetida ao processo térmico Ultra High Temperature (UHT). Este processo é combinado com a adição de conservantes químicos, sendo a água de coco posteriormente embalada assepticamente.

A estabilidade desses produtos pode ser afetada por fatores, tais como: qualidade da matéria-prima, tratamento térmico durante o processamento, temperatura de armazenamento, reações químicas e enzimáticas durante o armazenamento.

Nesse contexto, o objetivo deste capítulo foi avaliar a estabilidade físico-química, enzimática e de cor da água de coco com e sem a presença de sulfito, durante 180 dias, sob temperatura ambiente, bem como realizar análise sensorial e teste de esterilidade comercial.

3.2. MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Material

Cocos verdes (*Cocos nucifera*, L.) com idade de maturação entre 6 e 7 meses foram colhidos no Estado do Ceará, Brasil. Inicialmente os cocos foram selecionados, lavados em água corrente, seguido de imersão em água clorada (200 mg.L⁻¹ de hipoclorito de sódio) durante 15 min para reduzir a carga microbiana na superfície do fruto e, em seguida, cortado e a água foi extraída, filtrada e congelada - 17 ± 2 ° C para utilização em ensaios posteriores.

3.2.2 Preparo da amostra para estabilidade físico-química de 180 dias

Foram formuladas amostras de água de coco tratadas a 136°C/8s sem adição de sulfito (Tratamento A) e com adição de sulfito (20 mg. L⁻¹) (Tratamento B). A escolha da temperatura se baseou no ponto central do Delineamento Central Composto Rotacional (DCCR), realizado em experimento anterior (Capítulo 2), atendendo ao requisito da legislação vigente e também por não ser o limite máximo do uso do aditivo em alimentos.

O processo de esterilização UHT utilizou temperatura de 136°C, com vazão controlada para obter tempo de retenção de 8 segundos, utilizando um trocador de calor tubular, com vazão nominal de 20 L.h⁻¹, da marca Armfield, modelo FT74x UHT/HTST, seguido de resfriamento rápido, utilizando um sistema de refrigeração que faz recirculação de água gelada (*chiller*) da marca Armfield FT63, e envase em condições assépticas. A água de coco foi envasada em garrafas de vidro, previamente sanitizadas com ácido peracético 1% e armazenada a temperatura ambiente (28°C ± 2°C).

As amostras foram avaliadas quanto às características físico-químicas, químicas, enzimáticas e de cor (pH, acidez, sólidos solúveis, teor de sulfito, turbidez, atividade das enzimas polifenoloxidase e peroxidase e parâmetros de cor L*, a*, b*).

Os produtos foram analisados um dia após o processo de esterilização e seqüencialmente a cada 30 dias para avaliações físico-químicas, químicas, enzimáticas e de cor, durante 180 dias.

3.2.3 Análises

pH

Foi medido a 25 °C, por meio de leitura direta em potenciômetro, conforme metodologia da AOAC (1995).

Acidez

Foi realizada neutralizando-se a amostra com hidróxido de sódio com concentração padronizada, expressa em g de ácido málico por 100 mL de água de coco.

Sólidos Solúveis

Determinado com uso de refratômetro Atago PAL-3, ambas as análises de acordo com as normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz (2008).

Sulfito

A análise quantitativa de sulfitos foi efetuada pelo método **Monier-Williams** otimizado, sendo a amostra adicionada de ácido clorídrico sob fluxo de nitrogênio, gerando gases de enxofre através do condensador e passando por outro tubo com peróxido de hidrogênio, formando ácido sulfúrico. Este último foi titulado com hidróxido de sódio e relacionado com o conteúdo de sulfito, conforme indicado no método 990.28, da AOAC (2006).

Cor

As medidas de cor foram realizadas em colorímetro Konica Minolta, modelo CR 400, utilizando o sistema de cor CIELAB, sendo determinados os parâmetros L*, a*, b*, de luminosidade e cromaticidade. A turbidez foi medida através de Turbidímetro digital de bancada Tecnopon TB-1000, com resultado expresso em NTU (unidades Nefelométricas de turbidez).

Enzimas Polifenoloxidase e Peroxidase

As atividades das enzimas polifenoloxidase (PPO) e peroxidase (POD) foram realizadas de acordo com o método adaptado por Campos *et al.* (1996), usando catecol e guaiacol como substratos, respectivamente. Para a atividade da PPO, amostras da água de coco (1 mL), tampão fostato (0,2 M) e 0,7 mL do reagente foram colocados diretamente na cubeta do espectrofotômetro e efetuada a leitura da absorbância a 425 nm no tempo zero e após 10 minutos. Para a determinação da atividade da POD, a mistura de tampão fostato, 0,5 mL de guaiacol 0,5 g.L⁻¹ e 0,2 mL de peróxido de hidrogênio 0,1% foi colocada em banho maria a 35 °C durante 2 min. Em seguida, 1,0 mL de água de coco foi adicionada à cubeta e a

leitura feita a 470 nm. A absorbância foi registrada no tempo zero e após 10 minutos. Para ambas as análises, a referência foi fornecida por teste branco, substituindo água de coco por água destilada. A unidade de atividade enzimática foi calculada como sendo a quantidade de enzima que provoca uma alteração na absorbância de 0,001 por minuto. Os resultados foram expressos em UAE.mL⁻¹.

3.2.4 Análises microbiológicas

A análise de esterilidade comercial dos tratamentos, para avaliar a adequação do processo de esterilização, foi realizada de acordo com procedimentos descritos em APHA (2001). Amostras de água de coco recém-processadas foram pré-incubadas a temperatura de 35 °C por 10 dias. Após esse período, verificou-se a ocorrência de possíveis alterações, como estufamento e/ou vazamento. Não sendo observadas essas alterações, as amostras foram submetidas às análises microbiológicas. Foram retiradas porções de 50 mL da amostra e transferidas para frascos estéreis com tampas rosqueáveis. Essa porção foi conservada sob refrigeração, como contra-amostra. Logo após, 2 mL da amostra foi transferida em quatro tubos contendo Caldo de Fígado (CF) e quatro tubos contendo Caldo Dextrose Triptona (DTB) e foram cobertos com Ágar Selo. Dois tubos de CF e dois de DTB foram incubados a temperatura de 35 °C por 10 dias e o restante a 55°C por 4 dias. Dos tubos de CF, um foi incubado em condições anaeróbicas e um em condições aeróbicas. Após o período de incubação, os tubos foram observados quanto à ocorrência de crescimento microbiano (turvação do meio) e formação de película superficial. A observação de crescimento nos tubos e placas de CF incubados a temperatura de 35 °C e 55 °C confirma a presença de bactérias esporogênicas anaeróbicas mesófilas e termófilas, respectivamente; e nos tubos e placas de DTB incubados a temperatura de 35 °C e 55 °C confirma a presença de bactérias esporogênicas aeróbicas mesófilas e termófilas, respectivamente.

3.2.5 Análise sensorial

A avaliação sensorial das amostras de água de coco foi realizada no Laboratório de Análise Sensorial da Embrapa Agroindústria Tropical um dia após o processamento térmico. A avaliação sensorial foi feita com o objetivo de verificar o efeito do tratamento com sulfito na aceitação do produto. O teste foi aprovado pelo Comitê de ética da Universidade Estadual do Ceará (CEP-UECE), parecer 147.279/2012. Participaram 52 provadores não treinados, consumidores de água de coco, sendo os testes realizados em cabines individuais e amostras

servidas em copos plásticos, 25 mL, temperatura entre 12 e 14 °C, em ordem balanceada. Foi avaliada a aceitação global e o sabor das amostras utilizando escala hedônica estruturada de nove pontos, na qual os extremos representavam `gostei muitíssimo_ (9) e `desgostei muitíssimo_ (1) e o centro `nem gostei, nem desgostei_ (5) (MEILGAARD; CIVILLE; CARR, 1999). A intenção de compra foi avaliada mediante escala estruturada, abrangendo de `certamente compraria_ a `certamente não compraria_.

Foi realizado, na mesma sessão, o teste CATA (check-all-that-apply), no qual foi solicitado aos provadores que marcassem, dentro de uma lista de 14 descritores sensoriais, quais melhor descreviam as amostras de água de coco, levando em consideração aroma e sabor. Os termos descritivos foram selecionados com base em estudos preliminares realizados com possíveis provadores, sendo eles: sabor coco, coco seco, rapadura, aroma doce, aroma de açúcar, sabor cozido, aroma frutal, sabor estranho, sabor de velho, água de milho, adstringente e ferrugem.

A análise sensorial foi realizada 24h após o processamento UHT. Na análise de esterilidade comercial uma garrafa do lote A (136°C/8s) apresentou contaminação microbiológica. Por precaução, optou-se por não prosseguir com a análise sensorial no decorrer do armazenamento, embora raras embalagens apontassem contaminação.

Os resultados da análise sensorial foram expressos através de médias sensoriais da escala hedônica, além de histogramas de frequência para cada formulação em relação aos descritores característicos para cada tratamento.

3.2.6 Análise estatística

O experimento da estabilidade da água de coco processada por esterilização UHT, em temperatura de 136°C, e tempo de retenção de 8 segundos, foi conduzido segundo o delineamento em parcelas subdivididas, em ordem aleatória, com dois níveis (ausência e 20 mg.L⁻¹ de sulfito), e tempo de armazenamento nas subparcelas, em seis níveis (0, 30, 60, 90, 120 e 180 dias) mantidos à temperatura ambiente (28±2°C). Os experimentos foram realizados em três repetições, sendo aplicada análise de variância para estabelecer significância e análise de regressão. A média e o desvio-padrão foram apresentados em tabelas ou gráficos e para as regressões significativas foi apresentada a equação. Foi usado o programa estatístico SAS - Statistical Analysis System. Os resultados da avaliação sensorial foram analisados por histogramas de frequência e Análise de Variância (ANOVA), e para os

resultados significativos as médias foram comparadas pelo teste de Tukey (5% de significância).

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

De forma geral, a água de coco, com ou sem adição de sulfito, se mostrou estável no armazenamento, não apresentando diferenças significativas entre o período de 180 dias e entre os tratamentos (A e B), exceto para coordenada a* e turbidez (Apêndice B).

Com relação aos parâmetros pH, SS, acidez titulável, L*, b* e peroxidase não foram detectadas diferenças significativas ($P > 0,05$) entre formulações e tempo de armazenamento, estudando-se o comportamento dos parâmetros com o tempo de armazenamento por análise de regressão.

Quanto à determinação do teor de sulfito residual, a análise foi feita apenas para o tratamento B (136°C com adição de sulfito), visto que o tratamento A não continha o sulfito.

A enzima polifenoloxidase (PPO) exibiu valores próximos de zero na maioria dos tempos de armazenamento para os dois tratamentos estudados (A e B), por isso, não foram tratadas estatisticamente.

3.3.1. Estabilidade físico-química da água de coco durante 180 dias de armazenamento

A água de coco apresentou estabilidade nas respostas de análises físico-químicas, sendo os resultados apresentados na Tabela 1

Tabela 1. Análises físico-químicas da água de coco processada por UHT durante o armazenamento por 180 dias sob temperatura ambiente ($28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$).

Parâmetro	Armazenamento (dias)						P
	0	30	60	90	120	180	
Tratamento A - sem sulfito							
pH	5,0 ± 0,1	4,5 ± 0,3	4,9 ± 0,3	4,3 ± 0,0	5,3 ± 1,0	5,3 ± 0,6	>0,05
SS (° Brix)	6,3 ± 0,0	6,4 ± 0,1	6,3 ± 0,1	6,4 ± 0,0	6,3 ± 0,0	6,3 ± 0,1	>0,05
AT ⁻ % ácido málico ¹	0,13 ± 0,02	0,20 ± 0,04	0,13 ± 0,02	0,10 ± 0,04	0,14 ± 0,03	0,51 ± 0,18	>0,05
Tratamento B - com 20 mg. L⁻¹ de sulfito							
pH	4,9 ± 0,1	4,6 ± 0,1	4,5 ± 0,3	4,4 ± 0,1	4,5 ± 0,1	4,3 ± 0,0	>0,05
SS (° Brix)	6,3 ± 0,0	6,3 ± 0,0	6,4 ± 0,0	6,3 ± 0,1	6,3 ± 0,1	6,1 ± 0,2	>0,05
AT ⁻ % ácido malice	0,14 ± 0,02	0,18 ± 0,03	0,06 ± 0,01	0,10 ± 0,01	0,14 ± 0,01	0,37 ± 0,06	>0,05
Sulfito residual ²	12,8 ± 0,0	10,7 ± 1,8	12,8 ± 0,0	11,7 ± 1,8	12,8 ± 0,0	10,7 ± 1,8	>0,05

¹ AAT = acidez total titulável, em g ácido málico.100 mL⁻¹; ² Sulfito residual, em mg.L⁻¹.

A = água de coco UHT, sem adição de sulfito; B = água de coco UHT, com adição de 20 mg.L⁻¹ de sulfito.

3.3.1.1 pH

Os valores de pH tratados estatisticamente não apresentaram diferença significativa ($P > 0,05$) ao longo do tempo de armazenamento, oscilando entre 4,3 a 5,30 (Tabela 1), mostrando que o pH manteve-se estável durante 180 dias de armazenamento com valores próximos a 5,00, estando de acordo com a legislação que preconiza pH máximo de 5,4 para a água de coco esterilizada (BRASIL, 2009).

Silva *et al.* (2008) também observaram comportamento semelhante ao deste trabalho, ao avaliar a estabilidade de uma bebida composta por maracujá e água de coco, encontrando valores de pH entre 3,15 e 3,46.

Ao pesquisar água de coco microfiltrada, Mahnot *et al.* (2014) relataram valores de 5,7 a 5,8 para pH, superior ao observado neste estudo. Silva *et al.* (2003), avaliando a estabilidade da água de coco tratada por 'hot pack' durante 120 dias de armazenamento encontraram valores de pH entre 4,25 e 4,56, corroborando com os resultados relatados nesta pesquisa.

Abreu e Faria (2007) ao investigar o efeito da temperatura e do ácido ascórbico na estabilidade da água de coco (138°C/10s) durante 93 dias, verificaram valor médio de 4,93, resultado aproximado ao deste trabalho.

3.3.1.2 Sólidos Solúveis

Os resultados obtidos em relação do teor de sólidos solúveis, não apresentaram diferença significativa durante o armazenamento ($P > 0,05$); e os valores apresentaram pouca variação, oscilando de 6,2 a 6,3 Brix, no armazenamento por 180 dias (Tabela 1).

Brito *et al.* (2004), avaliando a estabilidade em néctar de maracujá elaborado com água de coco maduro, também constataram que não houve diferença significativa ($P > 0,05$) para °Brix durante 90 dias de armazenamento.

Chowdhury *et al.* (2005) também não observaram mudanças significativas nos sólidos solúveis da água de coco pasteurizada adicionada de sulfito de potássio durante 365 dias de armazenamento.

Verifica-se em relação aos sólidos solúveis (SS) que a água de coco esterilizada se manteve de acordo com o padrão exigido pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), que é de, no máximo 6,7 °Brix (BRASIL, 2009).

A estabilidade dos sólidos solúveis totais durante o período de armazenamento também foi constatada por Lima *et al.* (2008), em bebida mista à base de água de coco e suco de acerola armazenada à temperatura ambiente (25 ± 2 °C) por 180 dias.

3.3.1.3 Acidez Titulável

A acidez titulável apresentou comportamento estável até 120 dias de armazenamento, de 0,10 a 0,20 g ácido málico por 100 mL, sendo que apenas no último tempo analisado (180 dias) apresentou aumento, atingindo teor de 0,51 g ácido cítrico por 100 mL, dados apresentados na Tabela 2. Mesmo com a variação significativa ($P < 0,05$), não foi possível estabelecer modelo, pois a falta de ajuste apresentada na análise estatística também foi significativa (Apêndice B) ou apresentou coeficientes da equação não significativos ($P > 0,05$), sendo seus valores representados pelas médias das formulações em cada tempo.

Ocorreu um aumento da acidez da água de coco no decorrer do tempo de armazenamento, cujos valores médios variaram de 0,13 a 0,51% de ácido málico (Tabela 1). Mahnot *et al.* (2014) observaram aumento da acidez no decorrer de 49 dias, quando avaliaram a estabilidade da água de coco envasada em embalagem de PET e de vidro, similar aos resultados encontrados neste trabalho.

O aumento da acidez em água de coco pode ser devido à produção de ácidos livres por crescimento microbiano, normalmente leveduras (DURRANI *et al.*, 2010) ou por degradação de polissacarídeos (AKHTAR *et al.*, 2010). Considerando o longo tempo de armazenagem sob temperatura ambiente, e o número de embalagens processadas, uma falha de vedação de algumas embalagens pode ter permitido a entrada de micro-organismos que se desenvolveram e aumentaram a acidez. Comportamento similar foi encontrado por Chowdhury *et al.* (2005) ao avaliar a estabilidade da água de coco durante 365 dias. Os autores verificaram um aumento da acidez titulável, que variou de 0,08 a 0,39 % de ácido cítrico ao longo do período de armazenamento. Sucupira *et al.* (2015), ao avaliarem a acidez total titulável da água de coco processada por UHT (135 °C/9 s) relataram valores de 0,13 a 0,26% de ácido málico, corroborando com os resultados encontrados nesta pesquisa. Costa *et al.* (2005) verificaram, em frutos de coqueiro-anão (*Cocus nucifera* L. cv Verde) com 6 a 7 meses de idade, após diferentes métodos de conservação, acidez variando de 0,06 a 0,12% de ácido cítrico.

3.3.1.4 Sulfito residual

O teor de sulfito residual, considerando apenas o tratamento B, que teve a adição inicial de sulfito, durante o armazenamento manteve-se estável. Os valores obtidos mostraram que não houve diferença significativa durante o armazenamento ($P > 0,05$). Foi observado que os valores médios encontrados para este parâmetro apresentaram pequena variação, onde exibiram valores de 12,80 e 10,70, no início e ao final de 180 dias de armazenamento, respectivamente.

Como a quantidade adicionada antes do processo UHT foi de 20 mg de sulfito.L⁻¹, observou-se uma redução de 40% logo após o processamento. Isso se deve ao contato com as substâncias oxidantes presentes na água de coco, como também à sensibilidade do sulfito em altas temperaturas, ocorrendo assim sua degradação ou ligação com outros compostos constituintes da água de coco, como açúcares.

A fração de sulfitos que não se liga a outros compostos do alimento é definida como sulfito livre, constituindo uma mistura de SO₂, íons bissulfito e íons sulfito em um equilíbrio químico dinâmico. Essa fração é convertida rapidamente em dióxido de enxofre molecular quando o alimento sulfitado é acidificado (WEDZICHA, 1992).

O teor de SO₂ depende fortemente da natureza química do alimento, tipo de processo, duração e condições de estocagem (LOPEZ MALO *et al*, 1994). O fator tempo não foi relevante no que diz respeito à concentração de sulfito residual nesta pesquisa, pois se verifica pouca alteração no decorrer do tempo de armazenamento. Assim, deve haver também os efeitos de alguns outros fatores, como o conteúdo de sólidos solúveis, teor de umidade, atividade de água e de composição do alimento (ÖZKAN; TÜRKYILMAZ; GÜZEL, 2014).

As reações químicas originadas quando o dióxido de enxofre é adicionado às frutas e a outros alimentos são complexas. Quando o dióxido de enxofre é absorvido pelas frutas, ou por produtos com pH similar, ele é convertido, principalmente, em íon bissulfito. O íon bissulfito pode permanecer livre e disponível para retardar a formação de compostos tipo *Maillard*, e pode também se ligar, reversivelmente, a certos compostos, como os grupos carbonilas de aldeídos. Nos alimentos com pH ácido (pH < 4), o SO₂ pode volatilizar desprendendo-se do alimento (RAHMAN; PERERA, 1999; GUEKEZIAN *et al.*, 1997).

Bertolino e Rech (2012) avaliaram três diferentes tratamentos de coco ralado ao longo de 12 meses, mantidas em estufa a 28±2°C, com concentrações de 200, 100 e 50 mg.L⁻¹ de sulfito. Os autores verificaram para o tratamento com 50 mg.L⁻¹ que após dois meses de armazenamento, houve decaimento para 30 mg.L⁻¹, demonstrando que nos 2 primeiros meses

a perda de sulfito é mais acentuada. O tratamento com 200 mg.L⁻¹ chegou ao limite próximo de 30 mg.L⁻¹ após 10 meses e o tratamento com 100 mg.L⁻¹ apresentou 30 ppm ao final de 6 meses. Comportamento diferente ao encontrado neste estudo, pois o teor de sulfito sofreu decaimento entre o processamento térmico e o tempo 0 e depois se manteve estável no decorrer dos 180 dias. A diferença de comportamento pode ser devido ao fato do estudo de Bertolino e Rech (2012) ter sido conduzido com as amostras exposta ao oxigênio do ar, enquanto que neste experimento a água de coco está em embalagens fechadas e protegidas da luz e ar atmosférico, que podem degradar o sulfito.

3.3.2 Estabilidade da cor e turbidez da água de coco durante o armazenamento

Na Tabela 2 são apresentados os valores relacionados obtidos para as análises de cor e turbidez dos tratamentos de água de coco processada, durante o armazenamento.

Tabela 2- Análises de cor (L*, a* e b*) e turbidez da água de coco processada por UHT durante o armazenamento por 180 dias sob temperatura ambiente (28°C ±2°C).

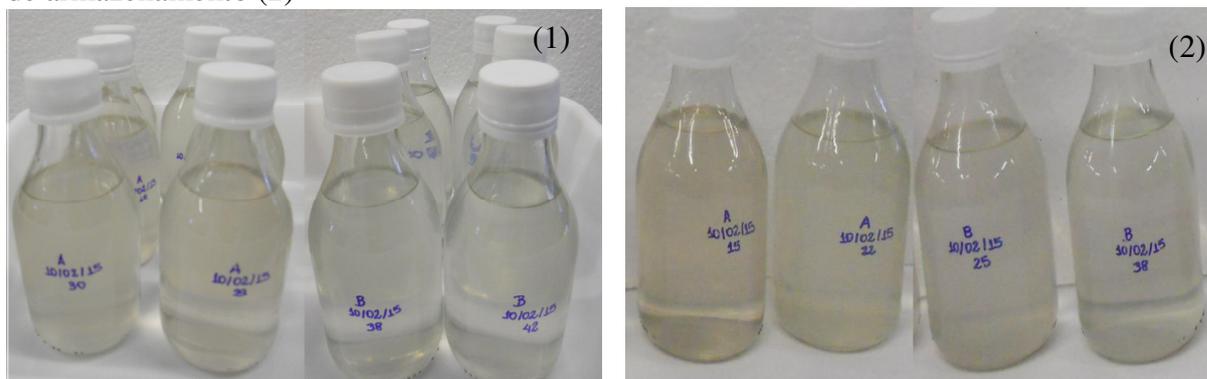
Parâmetro	Armazenamento (dias)						P ¹	
	0	30	60	90	120	180		
Tratamento A -sem SO₂								
Cor	L*	46,49 ± 0,4	46,07 ± 0,1	46,29 ± 0,5	46,45 ± 0,7	46,52 ± 0,4	45,99 ± 0,9	>0,05
	a*	0,17 ± 0,06	-0,07 ± 0,1	-0,29 ± 0,1	-0,19 ± 0,1	-0,32 ± 0,0	-0,36 ± 0,1	<0,05
	b*	3,25 ± 0,5	3,55 ± 0,1	3,52 ± 0,6	3,86 ± 0,6	3,80 ± 0,4	3,83 ± 0,9	>0,05
Turbidez ²	26,1 ± 1,3	30,0 ± 1,6	32,0 ± 1,1	36,2 ± 3,0	45,2 ± 0,8	51,8 ± 0,6	<0,05	
Tratamento B - com SO₂								
Cor	L*	46,33 ± 0,2	45,90 ± 0,2	44,70 ± 4,1	45,90 ± 0,9	45,77 ± 0,2	46,65 ± 0,1	>0,05
	a*	-0,06 ± 0,2	-0,14 ± 0,2	-0,17 ± 0,1	-0,27 ± 0,1	-0,31 ± 0,0	-0,37 ± 0,0	<0,05
	b*	3,34 ± 0,1	3,44 ± 0,0	3,31 ± 0,6	3,34 ± 0,6	2,95 ± 0,2	2,53 ± 0,1	>0,05
Turbidez ²	23,6 ± 2,9	43,4 ± 1,6	39,9 ± 2,8	35,6 ± 0,5	37,8 ± 4,7	46,8 ± 1,4	<0,05	

¹NS = não significativo se p > 0,05; ²Turbidez em NTU (Nephelometric Turbidity Units).

Os valores de Luminosidade (L*) nas águas de coco não apresentaram diferença significativa ao longo do tempo de armazenamento (P > 0,05), com uma média variando de 46,41 no início do armazenamento e 46,32 ao final do armazenamento, mantendo-se constante durante todo o armazenamento (Tabela 2 e Figura 1), indicando que não houve escurecimento da água de coco em 180 dias de armazenamento.

O valor L* varia de 0 (preto) a 100 (branco), e é um indicador de escurecimento, no qual expressa a luminosidade ou claridade da amostra, sendo observado que o seu valor é inversamente proporcional à sua coloração, portanto, as águas de coco estudadas apresentaram média luminosidade durante todo o período de armazenamento, resultados compatíveis com a observação visual da cor (Figura 1).

Figura 1 - Águas de coco A e B tratadas por UHT, após o processamento (1) e após 180 dias de armazenamento (2)



Fonte: A autora (2015).

Purkayastha *et al.* (2012) investigaram o efeito do ácido ascórbico (250 mg.L^{-1}) na água de coco microfiltrada durante 28 dias e mostraram valores de L^* que variaram de 95,54 a 70,76 no final do armazenamento, resultado superior ao encontrado nesta pesquisa. Costa *et al.* (2005) relataram valor de 27,99 para a luminosidade da água de coco envasada assepticamente. Possivelmente o tratamento utilizando calor causa escurecimento da amostra, reduzindo assim a luminosidade.

Na Tabela 2 estão apresentados os valores obtidos das médias de luminosidade para as águas de coco esterilizadas por UHT e armazenadas a temperatura ambiente ($28^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$) durante os 180 dias de armazenamento.

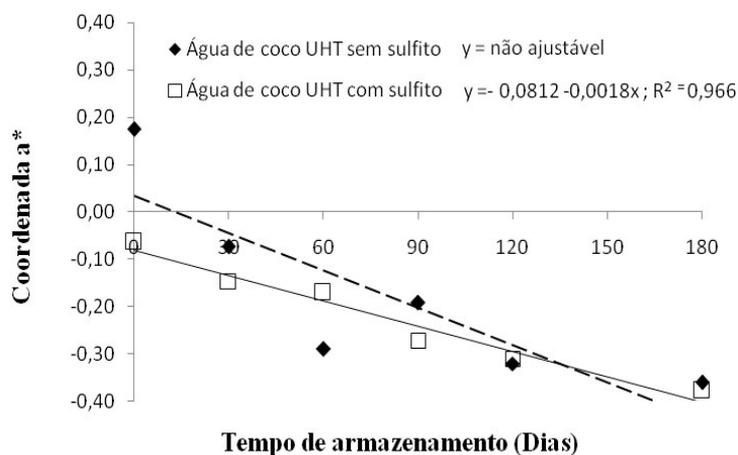
Resultados similares foram encontrados por Daltro *et al.* (2014) que ao desenvolver uma bebida mista de graviola com água de coco pasteurizada a $85^\circ\text{C}/60\text{s}$, encontrou valor médio de 44,19 para a luminosidade.

Os valores da coordenada a^* tratados estatisticamente apresentaram diferença significativa ($P < 0,05$) em função do tempo de armazenamento, ajustando-se a um modelo linear para o tratamento B; água de coco esterilizada por UHT e adicionada de sulfito (Figura 2). A água de coco esterilizada por UHT e não acrescida de sulfito (Tratamento A) apresentou falta de ajuste significativo para todos os modelos testados (Apêndice B).

A coordenada a^* mostra a intensidade de cor que varia do vermelho ao verde. A intensidade da cor vermelha é mensurada pelos valores positivos. Assim, valores mais baixos, representam menor tendência ao aparecimento do vermelho. As águas de coco esterilizadas por UHT apresentaram decréscimo significativo ao longo do tempo, que variou de -0,08 no início de armazenamento, para -0,40 ao final do armazenamento a temperatura ambiente por

180 dias (Tabela 2), corroborando com o não surgimento da cor rosada, fenômeno indesejável na vida de prateleira da água de coco.

Figura 2 - Média da coordenada a* das águas de coco esterilizadas por UHT armazenadas por 180 dias em temperatura ambiente ($28\pm 2^{\circ}\text{C}$).



Pereira, Faria e Pinto (2013) observaram valores médios de -0,47 para a coordenada a* da água de coco carbonatada adicionada de sorbato de potássio e metabissulfito de sódio, valores similares ao encontrado nesta pesquisa. Os autores constataram que o uso dos aditivos impediu o escurecimento das águas de coco.

Ochoa-Velasco *et al.* (2014) avaliaram os parâmetros de cor do leite de coco aquecido sob condições de pasteurização e verificaram que a coordenada a* foi reduzida após o processo.

Ao investigar a água de coco sob altas pressões e pasteurizada, Cappelletti *et al.* (2015) verificaram valores médios para a coordenada a* de 0,07 e 0,11, respectivamente, resultados muito próximos aos observados neste estudo.

As médias obtidas para coordenada b* não foi significativa em função do tempo de armazenamento ($P > 0,05$). Foi observada uma discreta variação dos valores médios obtidos para este parâmetro, onde tiveram valor de 3,30 e 3,18, no início e ao final de 180 dias de armazenamento, respectivamente, caracterizando uma coloração levemente amarelada. Isso pode ser devido aos processos não enzimáticos de escurecimento que ocorrem quando a água de coco é submetida ao processamento UHT, sugerindo uma reação de Maillard que implica em oxidação da amostra, com mudança de cor. Também indicaram nesse trabalho, que todos os

tratamentos apresentaram apenas tonalidade amarela e valores positivos de cor b^* . Os valores das médias para coordenada b^* estão representados na Tabela 2.

Chowdory *et al.* (2005) ao avaliar a estabilidade durante 365 dias da água de coco esterilizada, também não evidenciaram alteração significativa na cor, que se manteve amarelada ao longo do período de armazenamento.

Pereira, Faria e Pinto (2013) em trabalho com água de coco pasteurizada a $90^\circ\text{C}/30\text{s}$ e carbonatada, testaram a eficiência dos conservantes sorbato de potássio e metabissulfito de sódio e observaram que o resultado para o parâmetro de cor b^* revelou pouca variação para o tratamento de água de coco com 400 mg. L^{-1} de sorbato de potássio e 80 mg.L^{-1} de metabissulfito de sódio (na época a legislação brasileira permitia um limite máximo de 200 mg.L^{-1}) durante armazenamento por 54 dias. Todos os ensaios apresentaram apenas tonalidade amarela e valores positivos de cor b^* , comportamento semelhante ao desta pesquisa.

Sousa (2006) investigou três formulações de água de coco ultrafiltrada adicionada de ácido ascórbico e envasada assepticamente em garrafas de vidro e observou valores de para a coordenada b^* que variaram de 4,06 a 2,92, corroborando com os resultados encontrados nesta pesquisa.

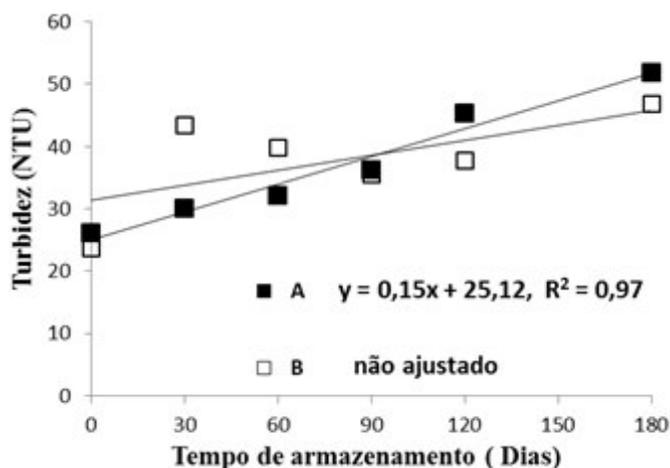
3.3.2.1 Turbidez

Em relação à turbidez, houve diferença significativa entre os tratamentos e o tempo de armazenamento nas águas de coco ($P \leq 0,05$) (Apêndice B). Assim, os tratamentos A e B foram avaliados separadamente em relação a este parâmetro na análise de regressão com o tempo de armazenamento (Apêndice B).

Os dados da água de coco do tratamento A (sem sulfito) se ajustaram ao modelo linear e os da água de coco tratamento B (com sulfito) não foram ajustados a nenhum modelo testado.

Os resultados encontrados para turbidez estão descritos na Figura 3.

Figura 3- Média da turbidez da água de coco esterilizada por UHT armazenada por 180 dias em temperatura ambiente ($28\pm 2^{\circ}\text{C}$).



Foi verificado um aumento da turbidez no decorrer do tempo de armazenamento, sugerindo o crescimento microbiano com formação de gás e ácido no final dos 180 dias de armazenamento, ou provável volatilização do sulfito em decorrência do tempo de estocagem e do tratamento térmico. O aumento da turbidez não se correlacionou com a luminosidade, que se manteve estável no tempo de armazenamento.

Awua *et al.* (2011) observaram o aumento contínuo para a turbidez da água de coco esterilizada em autoclave, sugerindo que reações de formação de matéria insolúvel sejam desencadeadas, além desse aumento mascarar a detecção da cor amarela. Cappelletti *et al.* (2015) atribuíram mudança de comportamento da coloração da água de coco devido a desestabilização de emulsões e precipitação de proteínas.

Purkayastha *et al.* (2012) verificaram aumento na turbidez da água de coco com e sem ácido ascórbico armazenada durante 28 dias a temperatura de 4°C e atribuíram a possíveis contaminações microbianas e sedimentos celulares. Comportamento semelhante ao observado nesta pesquisa.

Pereira, Faria e Pinto (2013) verificaram aumento da turbidez no decorrer de 54 dias de armazenamento a temperatura ambiente para água de coco formulada com sorbato de potássio e metabissulfito de sódio, com valores médios de 33,88 NTU. Os autores relataram que o teor de sulfito foi significativo para a turbidez, ou seja, os tratamentos com menores concentrações de sulfito apresentaram maiores valores médios para esse parâmetro. Esse comportamento já era esperado, visto que esse aditivos agem como antioxidante, contribuindo para manutenção da cor e da estabilidade desses produtos.

Leber (2001) avaliou a estabilidade da água de coco congelada e resfriada em garrafas de polietileno tereftalato (PET) estocada a 15°C durante 9 meses e observou um significativo aumento na turbidez após o segundo mês de estocagem, influenciando negativamente na estabilidade da água de coco, coincidindo com a elevação do crescimento microbiano e influenciando negativamente na estabilidade.

3.3.3 Estabilidade enzimática da água de coco durante o armazenamento

3.3.3.1 Enzimas Polifenoloxidase e Peroxidase

Os resultados obtidos para atividade enzimática indicaram ausência de atividade para a polifenoloxidase, sugerindo que o processo UHT foi suficiente para a sua inativação, mantendo os valores próximos de zero durante todo o armazenamento, enquanto que a atividade da peroxidase (POD) apresentou, nos tempos de armazenamento de 60, 90 e 120 dias, valores de atividade próximos ou inferiores aos limites de detecção e quantificação do método de análise (Tabela 3), que foram 0,30 e 0,25 para PPO e POD, respectivamente.

Tabela 3 - Resultados para atividade enzimática da peroxidase (POD) e polifenoloxidase (PPO) da água de coco processada por UHT durante o armazenamento por 180 dias sob temperatura ambiente (28°C ±2°C).

		0	30	60	90	120	180
PPO ¹	A	0,00 ± 0,0	0,00 ± 0,0	0,00 ± 0,0	0,00 ± 0,0	0,00 ± 0,0	0,19 ± 0,3
	B	0,00 ± 0,0	0,00 ± 0,0	0,00 ± 0,0	0,00 ± 0,0	0,00 ± 0,0	0,06 ± 0,1
POD ¹	A	0,00 ± 0,0	0,00 ± 0,0	0,72 ± 0,4	0,27 ± 0,2	1,96 ± 0,3	0,00 ± 0,0
	B	0,00 ± 0,0	0,00 ± 0,0	0,62 ± 0,6	0,10 ± 0,3	1,2 ± 0,3	0,00 ± 0,0

¹ Resultado em Unidades de Atividade Enzimática (UAE.mL⁻¹). A = água de coco UHT, sem adição de sulfito; B = água de coco UHT, com adição de 20 mg.L⁻¹ de sulfito

Os valores encontrados para a atividade da PPO e da POD neste estudo não apresentaram diferença significativa ao longo do tempo de armazenamento (P > 0,05), variando de 0,00 a 1,96 UAE.mL⁻¹ (Tabela 3).

Após o tratamento térmico, não foi detectada atividade para a polifenoloxidase em nenhum dos lotes produzidos. Provavelmente o pH da água de coco, em torno de 5,00, não favoreceu a atividade dessa enzima, cujo valor ótimo se encontra em pH 7,0. PPO é uma enzima que atua sobre grande variedade de compostos fenólicos, em função do pH do meio, concentração de compostos fenólicos presentes, temperatura, concentração da própria enzima, entre outros fatores (KWIATKOWSKI *et al.*, 2012).

Foi verificada que a atividade da POD praticamente se manteve constante e próxima ao valor zero, isto mostra que ambos os tratamentos térmicos aplicados (136°C/8s sem uso de sulfito e 136°C/8s com uso do sulfito) se mostraram eficientes em reduzir a atividade enzimática, não sendo observada reativação da enzima ao longo do armazenamento. O uso do sulfito pareceu não influenciar na redução da atividade enzimática, uma vez que não houve diferença estatística significativa entre os tratamentos e ambos mostraram baixos valores, próximos a zero, no início e no fim do armazenamento (Tabela 3).

Murasaki-Aliberti *et al.* (2009) evidenciaram que o tratamento com calor, com tempos de retenção mais curtos podem minimizar as perdas nutricionais e sensoriais em água de coco e promover 90% de inativação enzimática. Balasubramanian e Boopathy (2013) observaram que em temperaturas acima de 60°C a atividade da peroxidase decresceu acentuadamente, este comportamento pode ser devido ao desdobramento da enzima.

Abreu e Faria (2007) ao avaliar a atividade enzimática de água e coco envasada assepticamente, verificaram que a água de coco formulada com ácido ascórbico não apresentou atividade de polifenoloxidase e a atividade da peroxidase caiu cerca de 60%.

Tan *et al.* (2014) já havia relatado baixa atividade das enzimas na água de coco verde, encontrando valores de 0,543 e 0,052 UAE. mL⁻¹. °Brix⁻¹ min⁻¹, respectivamente para PPO e POD, sendo a atividade de ambas as enzimas diminuída ao longo dos 15 minutos de aquecimento, com uma redução drástica observada a temperatura de 95°C. Os resultados mostraram que a inativação completa de POD foi conseguida com tratamento térmico a 90° C e tempo de retenção de 2,5 min.

Pereira, Faria e Pinto (2013) pesquisaram a estabilidade, no decorrer de 60 dias, da água de coco carbonatada e pasteurizada a 90°C/30s, adicionada com metabissulfito de sódio e sorbato de potássio. Os autores relataram valores médios de 0,026 UAE.mL⁻¹ e 0,023 UAE.mL⁻¹ para PPO e POD, respectivamente, concordando com os resultados encontrados neste trabalho para POD, em que o valor médio foi de 0,4.

3.3.4 Análise Microbiológica

O teste de esterilidade comercial realizado 24h após o processamento das amostras, com a incubação para crescimento de mesófilos e termófilos, não apresentou estufamento das embalagens, indicando ausência de micro-organismos formadores de gás. Após incubação, não foi evidenciado crescimento de bolores na menor diluição utilizada (<10⁻¹ UFC. mL⁻¹), todavia, em algumas embalagens do tratamento A, grupos de micro-organismos aeróbios mesófilos foram isolados (2,0 10⁶ UFC.mL⁻¹), indicando possível contaminação pós-

processamento, possivelmente por falha na esterilização química da embalagem ou ainda de vedação da tampa, evidenciando a necessidade de monitoramento em todas as etapas do processo, a fim de evitar perdas na qualidade microbiológica da água de coco. Por esta razão, resolveu-se não prosseguir com a análise sensorial nos demais tempos de armazenamento.

3.3.5 Análise sensorial

3.3.5.1 Caracterização dos provadores

A análise sensorial foi realizada 24h após o processamento por UHT.

Na avaliação sensorial da água de coco participaram 52 provadores não treinados, sendo 68% mulheres e 32% homens.

A pesquisa não tinha uma inclinação para a questão do gênero, aqui, faz-se necessário comentar que o público, em sua maioria, foi composto pelo sexo feminino.

A frequência do consumo da água de coco foi média, onde 41% dos provadores indicaram consumir uma vez ou três vezes por semana.

3.3.5.2 Aceitação sensorial da água de coco

Para a água de coco, não foi observada diferença significativa ($P > 0,05$) entre as formulações A (136°C/8s sem sulfito) e B (136°C/8s com adição de 20 mg.L⁻¹ de sulfito).

Os valores médios para cada atributo das duas formulações estão descritas na Tabela 4.

Tabela 4 - Valores médios para os atributos de aceitação global, sabor e intenção de compra para os tratamentos de água de coco.

Formulações	Média dos atributos avaliados*		
	Aceitação Global	Sabor	Intenção de Compra
A	6,26 ^a	6,22 ^a	3,38 ^a
B	6,18 ^a	5,96 ^a	3,50 ^a

A- Água de coco processada a 136°C/8s sem adição de sulfito; B - Água de coco processada a 136°C/8s com adição de 20 mg. L⁻¹ de sulfito. Notas sensoriais: (9) `gostei muitíssimo_ e (1) `desgostei muitíssimo_ e (5) é o centro `nem gostei, nem desgostei_. Notas de intenção de compra (1) `certamente não compraria e (5) `certamente compraria_.*Valores na mesma coluna seguidos de letras diferentes, indicam diferença significativa ao nível de 5 % ($P < 0,05$).

Fonte: A autora (2015)

Os resultados obtidos para as análises sensoriais nos atributos sabor, aceitação global e intenção de compra se apresentaram na zona de aceitação da escala hedônica, mostrando que ambas as formulações de água de coco tiveram uma boa avaliação diante dos participantes do teste.

Para o atributo aceitação global, as médias se localizaram entre "gostei ligeiramente" e "gostei moderadamente", ficando na zona de aceitação da escala hedônica, em que os provadores não notaram diferenças ($P < 0,05$) entre as duas formulações. O atributo sabor apresentou médias próximas a nota 6, que indica "gostei ligeiramente". Para a intenção de compra das amostras de água de coco, pode-se notar médias variando entre os pontos 3 e 4, que corresponde a "talvez comprasse/talvez não comprasse" a "provavelmente compraria", respectivamente.

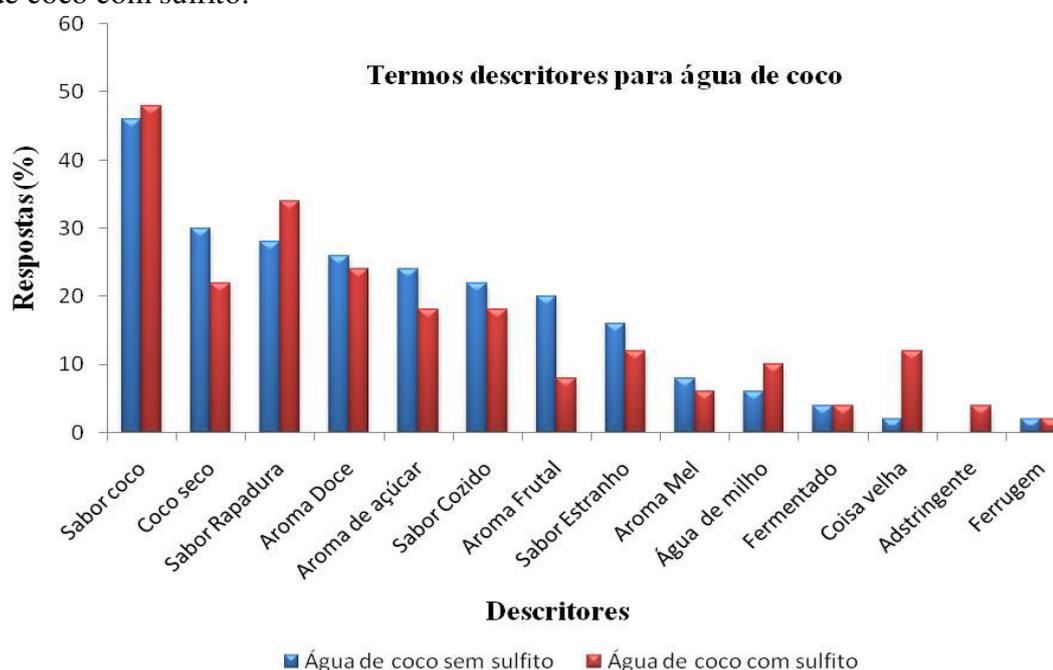
Gabriel e Arellano (2014) avaliaram sensorialmente, através de uma escala de 7 pontos, água de coco pasteurizada e relataram valores médios de 6,16 (que correspondia a "gostei moderadamente") para o atributo aceitação global. Valores superiores ao desta pesquisa. Em estudo realizado por Prado *et al.* (2015), analisando sensorialmente água de coco *in natura* utilizando uma escala estruturada de 7 pontos, verificaram valores médios de 5,50 e 5,20 para aceitação global e sabor, respectivamente, ou seja, similares aos encontrados no referido estudo com água de coco esterilizada.

De maneira geral, as duas formulações tiveram aceitação positiva, não havendo diferença estatística significativa ($P > 0,05$) entre os tratamentos.

A figura 4 exibe os termos descritores para a água de coco sem sulfito e com sulfito, tratadas a 136°C/8s.

Pode-se verificar que os termos "sabor coco", "coco seco", "aroma doce" obtiveram maior frequência para os dois tratamentos analisados. Abreu *et al.* (2005), analisaram o perfil sensorial de amostras de água de coco esterilizadas e observaram a presença dos descritores "aroma pútrido", "sabor de coco passado" e "sabor doce", que pode corresponder ao aroma de "aroma fermentado", "sabor cozido" e "sabor rapadura", respectivamente.

Figura 4 - Histograma de frequência para os termos atribuídos a água de coco sem sulfito e água de coco com sulfito.



Fonte: A autora (2015)

O termo `ferrugem_` foi observado com menor intensidade, contudo, o mesmo termo foi observado em estudos anteriores. Maior intensidade para o aroma de milho e adstringente para a água de coco com sulfito, se deve possivelmente a presença do aditivo. Leber (2001) e Campos *et al.* (1996) atribuíram alterações nas características sensoriais da água de coco à presença de aditivos e aplicação de tratamento térmico. A adição de sulfito para evitar o escurecimento pode contribuir para a presença de sabores e odores anormais na água de coco pela formação de compostos de enxofre, sendo, neste trabalho, atribuído ao termo `sabor estranho_`.

`Sabor rapadura_`, `aroma doce_` e `aroma de açúcar_` foram termos pertinentes a água de coco, provavelmente devido à correção do °Brix utilizando frutose e também a caramelização dos açúcares através do processo de esterilização. A água de coco contém compostos nitrogenados e ácidos graxos que sofrem degradação, originando compostos de aroma e sabor desagradável (ABREU *et al.*, 2005), descritos pela equipe como `sabor estranho_` e `fermentado_`.

Cappelletti *et al.* (2015) avaliaram as diferenças sensoriais entre a água de coco *in natura*, pasteurizada e tratada por altas pressões. Foi utilizada uma lista de 14 termos descritivos para caracterizar os tratamentos e diferenciá-los. Dentre os termos, destacou-se:

doce e ácido para sabor e odor de manteiga, cozido, floral, nozes e pão torrado. A amostra de água de coco pasteurizada se caracterizou pelos termos `nozes_ e `pão torrado_. Os autores sugerem que esse comportamento foi devido às concentrações mais elevadas de aldeídos e cetonas, bem como maior concentração do composto 2-acetil-1-pirrolina, que aumentou significativamente no produto pasteurizado. Este composto tem um impacto sensorial descrito como "torrado", "pipoca" e "malte" (BURDACK-FREITAG E SCHIEBERLE, 2010).

Luvielmo *et al.* (2004) pesquisando sobre água de coco pasteurizada convencionalmente, pasteurizada em micro-ondas e congelada, observaram que a amostra processada por pasteurização convencional evidenciou claramente a maior intensidade dos atributos de aroma e sabor passado e aroma de ranço, corroborando com os resultados expostos nesse estudo, em que as características das águas de coco avaliadas apresentaram frequência nos termos `sabor cozido_ e `coco seco_.

3.4 CONCLUSÕES

A água de coco submetida a processo térmico de esterilização UHT apresentou estabilidade físico-química e enzimática durante o armazenamento a temperatura ambiente ($28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$). Algumas amostras apresentaram crescimento de bactérias mesófilas, estando não comercialmente estéril.

O uso do sulfito não influenciou na redução da atividade enzimática, uma vez que não houve diferença estatística significativa entre os tratamentos com e sem o aditivo. No entanto, o uso do sulfito é necessário para evitar mudança de coloração quando a condição de esterilização UHT não for alcançada, ou seja, no subprocessamento.

Sob o aspecto sensorial, não foi observada diferença estatística significativa entre os tratamentos com e sem sulfito logo após o processamento térmico de água de coco UHT, nas quais predominaram os termos descritivos `sabor de coco_, `sabor doce_ e `sabor rapadura_.

REFERÊNCIAS

- ABREU, L. F. *et al.* Perfil sensorial e aceitabilidade de amostras de água de coco obtidas por diferentes processos de fabricação. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, Curitiba, v.23, n.2, p.397-412, 2005.
- ABREU, L. F.; FARIA, J. A. F. Influência da temperatura e do ácido ascórbico sobre a estabilidade físico-química e atividade enzimática da água de coco (*Cocos nucifera* L.) acondicionada assepticamente. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 2, p. 226-232, 2007.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY. **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemistry**. 16 ed. Washington, 1995c. 1141p.
- ASSOCIATION OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY. **AOAC official methods of analysis 18.ed.** Arlington: AOAC International, 2006. p.28-34.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. Washington, 2001, 676 p.
- AKHTAR, S. *et al.* Physico-chemical, microbiological and sensory stability of chemically preserved mango pulp. **Pakistan Journal of Botany**, [Karachi] v. 42, n. 2, p. 853-8, 2010.
- AWUA, A. K.; DOE, E.D., AGYARE, R. Exploring the influence of sterilisation and storage on some physicochemical properties of coconut (*Cocos nucifera* L.) water. **Biomed Central**, [S.l.] v. 4, p. 451-459, 2011.
- BALASUBRAMANIAN, M.; BOOPATHY, R. Purification and characterization of peroxidases from liquid endosperm of (*Cocos nucifera* L.): Biotransformation. **Journal of Molecular Catalysis B-Enzymatic**, [Amsterdam] ,v. 90, n.1, p. 33-42, 2013.
- BERTOLINO, M.T., RECH, H. Avaliação de shelf-life do coco ralado (*Cocos nucifera* L) desidratado através de análise sensorial e correlação com o teor de sulfito residual. **Especialize Revista Online**, [Goiânia], v. 2, n.1, 2012.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 8, de 06 de março de 2013. Aprova o uso de aditivos alimentares para produtos de frutas e de vegetais e geleia de mocotó. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, 46, Seção 1, 2013, p. 68. Brasília, DF, 06 mar. 2013. Disponível em: <portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/1cac3e004edacb17a9e8ab8a610f4177 >. Acesso em: 25 jan. 2014.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. Instrução normativa nº 31, de 13 de agosto de 2009. Altera a Instrução Normativa 27/2009, que Estabelece os procedimentos mínimos de controle higiênico-sanitário, padrões de identidade e características mínimas de qualidade gerais para a água de coco submetida a processos industriais e destinada para uso humano como bebida. **Diário Oficial da União**, nº 139, ago, 2009, Seção 1, página 32.

BURDACK-FREITAG, A.; SCHIEBERLE, P. Changes in the key odorants of italian hazelnuts (*Coryllus avellana* L. Var. Tonda Romana) induced by roasting. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.58, n.1, p. 6351-6359, 2010.

BRITO, I.P.; FARO, Z.P.; MELO FILHO, S.C. Néctar de maracujá elaborado com água de coco seco (*Cocus nucifera*, L.). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS - ESTRATÉGIA PARA O DESENVOLVIMENTO, 19., Recife, 2004. **Anais ...** Recife, PE, SBCTA, 2004.

CAMPOS, C. F. *et al.* Chemical composition, enzyme activity and effect of enzyme inactivation on flavor quality of green coconut water. **Journal Food Processing Preservation**, College Park , v. 20, n. 6, p. 487-500, 1996.

CAPPELLETTI, M. *et al.* High Pressure Carbon Dioxide pasteurization of coconut water: A sport drink with high nutritional and sensory quality. **Journal of food engineering**, v. 145, p. 73-81, 2015.

CHOWDHURY, M. M.; AZIZ, M. G.; UDDIN, M. B. Development of Shelf-stable Ready-to-serve Green Coconut Water. **Biotechnology**, [Zulia], v. 2, p. 121-125, 2005.

COSTA, L. M. C. *et al.* Avaliação de água de coco obtida por diferentes métodos de conservação. **Ciência e Agrotecnologia de Lavras**, Lavras, v. 29, n.6, p. 1239-1247, 2005.

DALTRO, A.C.B. *et al.* Desenvolvimento de bebida mista de graviola com água de coco: processamento, qualidade e avaliação sensorial. **Caderno Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável** , [Pombal, PB], v. 4, n. 1, 2014.

DURRANI, Y.; AYUB, M.; MUHAMMAD, A.; ALI, A. Physicochemical response of apple pulp to chemical preservatives and antioxidant during storage. **Internet Journal of Food Safety**, [Kansas], v.12, p. 20-28, 2010.

GABRIEL, A.A., ARELLANO, R.U. Decimal reduction times of acid-adapted and non-adapted *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* spp., and *Listeria monocytogenes* in young *Cocus nucifera* Linn. liquid endosperm. **Food Control**, [Nigeria], v. 37, n.1, p. 21-26, 2014.

GUEKEZIAN, M. *et al.* Stability of Sulfur (IV) solutions in the presence of amines and the tendency of sulfite ions to disproportionate in stock solutions. **Analytical Letters**, [S.I.], v.30, n.7, p.1423-1436, 1997.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 6. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.1020p.

KWIATKOWSKI, A.; OLIVEIRA, D. M.; CLEMENTE, E. Atividade enzimática e parâmetros físico-químicos de água de cocos colhidos em diferentes estádios de desenvolvimento e estação climática. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.34, n.2, p. 551-559, 2012.

LEBER, A. S. M. L. **Avaliação da estabilidade de água de coco (*Cocus nucifera*) em garrafas de polietileno tereftalato (PET) estocadas congelada e refrigerada**. 2001. 151 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos)´ Universidade de Campinas, 2001.

- LIMA, A. S. *et al.* Desenvolvimento de bebida mista à base de água de coco e suco de acerola. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Paraíba, v.28, n.3, p.683-690, 2008.
- LÓPEZ-MALO, A. *et al.* Shelf-stable high moisture papaya minimally processed by combined methods. **Food Research International**, [S.l.] v. 27, n. 6, p. 545- 553,1994.
- LUVIELMO, M. D. M. *et al.* Influência do processamento nas características sensoriais da água de-coco. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, Paraná, v. 22, n. 2, p. 253 -270, 2004.
- MACHADO, R. M. D. Analytical determination of sulphites in fruit juices available on the Brazilian market. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v.11, n. 33, p. 226-233, 2008.
- MAHNOT, N. K. *et al.* Effect of additives on the quality of tender coconut water processed by nonthermal two stage microfiltration technique. **LWT-Food Science and Technology**,[S.l.], v. 59, n. 2. p. 1191-1195, 2014.
- MEILGAARD, M.; CIVILLE, G.V.; CARR, B.T. **Sensory evaluation techniques**. 3. ed. Boca Raton: CRC, 1999. 390p.
- MESQUITA, P.C. *et al.* Microbiological, physico-chemical and sensorial stability of cashew apples (*Anacardium occidentale* L.) processed by combined methods. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, [São Paulo], v. 23, p. 366~369, 2003.
- MURASAKI-ALIBERTI, N. D. C. *et al.* Thermal inactivation of polyphenoloxidase and peroxidase in green coconut (*Cocos nucifera*) water. **International Journal of Food Science and Technology**, [S.l.], v. 4, n. 12, p. 2662~2668, 2009.
- OCHOA-VELASCO, C. H.; CRUZ-GONZÁLEZ, M. ; GUERRERO-BELTRÁN, J. A. Ultraviolet-C light inactivation of *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium* in coconut (*Cocos nucifera* L.) milk. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, [S.l.], v. 26, p. 199-204, 2014.
- ÖZKAN, M.; TÜRKYILMAZ, M.; GÜZEL, N. Loss of sulphur dioxide and changes in some chemical properties of Malatya apricots during drying. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, [S.l.]v. 94, n. 12, p. 2488-96, 2014.
- PEREIRA, E.P.R.; FARIA, J.D.A; PINTO, U.M. Optimizing the use of potassium sorbate and sodium metabisulfite for the chemical and microbial stability of carbonated coconut water. **Brazilian Journal of Food Technology**, [S.l.] v.16, n. 1, p. 125-132, 2013.
- PRADO, F.C.; LINDNER, J.D.D.; INABA, J.; THOMAZ-SOCCOL, V.; BRAR, S.K.; SOCCOL, C.R. Development and evaluation of a fermented coconut water beverage with potential health benefits. **Journal of Functional Foods**, [S.l.], v.1, n. 12, p. 489~497, 2015.
- PURKAYASTHA, M. *et al.* Effect of L-ascorbic acid addition on the quality attributes of micro-filtered coconut water stored at 4 °C. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, [S.l.], v. 16, p. 69-79, 2012.
- RAHMAN, M.S.; PERERA, C.O. Drying and preservation. *In*: RAHMAN, M.S.

Handbook of food preservation. New York: Marcel Dekker, 1999. cap.6, p.173-216.

REDDY, K. V.; DAS, M.; DAS, S. K. Non-thermal sterilization of green coconut water for packaging. **Journal of Food Quality**, [S.l.], v. 30, n. 4, p. 466-480, 2007.

SILVA, C. R. R. *et al.* Estabilidade da água de coco submetida ao processo `hot pack`. **Publicação UEPG Ciências Exatas Terra, Ciências Agrícolas, Engenharia**, Ponta Grossa, v.9, n.3, p.15-21, 2003.

SILVA, F. V. G. *et al.* Composição mineral de bebida mista elaborada com água de coco e suco de maracujá. **Visão Acadêmica**, [Curitiba], v. 7, p. 25-28, 2006. Disponível em: < <http://goo.gl/6AVYfY>> Acesso em: 19 maio, 2007.

SILVA, F. V. G. *et al.* Avaliação da estabilidade de bebida mista elaborada com água de coco e suco de maracujá. **Acta Scientiarum. Technology**, [Maringá], v. 28, n. 2, p. 191-197, 2008.

SOUSA, C. R. **Avaliação de processo de produção de água de coco (*Cocos nucifera*) por ultrafiltração e envase asséptico em garrafas de vidro.** 2006. 138f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, 2006.

SUCUPIRA, N.R. *et al.* Effect of sulphite and UHT sterilization parameters in the coconut water quality. **Chemical Engineering Transactions**, [Budapest], v.44, p. 79-84, 2015.

TAN, T. C. *et al.* Composition, physicochemical properties and thermal inactivation kinetics of polyphenol oxidase and peroxidase from coconut (*Cocos nucifera*) water obtained from immature, mature and overly-mature coconut, **Food Chemistry**, [S.l.], v. 142, n.1, p. 121-128, 2014.

TAYLOR, S. L.; HIGLEY, N. A.; BUSH, R. K. Sulfites in foods: uses, analytical methods, residues, fate, exposure, assessment, metabolism, toxicity, and hypersensitivity. **Advances in Food Research**, [Chichester], v. 30, p. 1-76, 1986.

WEDZICHA, B. L. Chemistry of sulphiting agents in food. **Food Additives and Contaminants**, [S.l.], v. 9, n. 5, p. 449-459, 1992

CAPÍTULO 4*

USO DE ESPECTROSCOPIA DE RMN E QUIMIOMETRIA PARA AVALIAR DIFERENTES PROCESSAMENTOS DE ÁGUA DE COCO

RESUMO

Métodos de RMN fornecem informações sobre uma vasta gama de compostos presentes na matriz dos alimentos, pois além de apresentar as vantagens em termos de simplicidade na preparação da amostra, tem um curto tempo de análise. Diante disso, aplicou-se RMN e quimiometria para compreender as variações na composição química da água de coco sob diferentes processamentos. Seis tratamentos foram aplicados a água de coco: dois controle *in natura* (com e sem sulfito) e quatro processados termicamente a 110°C/8s e 136°C/8s (com e sem a adição de sulfito). Dentre os tratamentos, apenas o com temperatura de 110°C e sem adição de sulfito apresentou alteração formando coloração rosada um dia após processamento. De acordo com a análise quimiométrica, os tratamentos UHT a 136°C exibiram níveis inferiores de glicose e ácido málico, enquanto os tratamentos com adição de sulfito apresentaram menor quantidade de sacarose, sugerindo temperaturas mais suaves para evitar a decomposição e a hidrólise deste dissacarídeo. Os tratamentos com sulfito e processados em temperaturas de 110°C apresentaram maior quantidade de etanol. Apesar destas leves diferenças, nenhuma mudança significativa foi verificada na análise quantitativa da água de coco como um todo. Tanto o uso de sulfito quanto temperatura de 136°C demonstraram ser eficazes na prevenção da formação da cor rosada e na manutenção dos níveis dos principais compostos orgânicos da água de coco processada.

Palavras-chave: *Cocus nucifera*, Análises multivariadas, Esterilização, Sulfito, UHT.

4.1 INTRODUÇÃO

A água de coco está ganhando popularidade na indústria de bebidas devido ao seu alto valor nutricional e algumas potenciais propriedades terapêuticas (TAN *et al.*, 2012). Ela também contém proteínas, gorduras, minerais, e é muito rica em hidratos de carbono, glicose, frutose, sacarose, celulose e ácidos orgânicos tais como ácido tartárico, ácidos málico e cítrico (SILVA *et al.*, 2009; CAMPBELL-FALCK *et al.*, 1997; SANTOSO *et al.*, 1996).

Processos de preservação são necessários para aumentar a vida de prateleira da água de coco e para permitir a comercialização. A água de coco, depois de retirada do fruto, dura cerca de um dia, por causa da contaminação externa por micro-organismos (REDDY; DAS; DAS, 2005). O processo de esterilização UHT é eficaz na redução microbológica e enzimática, no entanto, alterações sensoriais e nutricionais são geralmente apresentadas, o que compromete a qualidade e a aceitação do produto final (TAN *et al.*, 2014; CAMPOS *et al.*, 1996). A esterilização associada com o uso de sulfito foi adotada pela indústria para aumentar a vida de prateleira e para evitar alterações do produto. O sulfito é amplamente usado para evitar o escurecimento causado por reações enzimáticas ou oxidativas e a legislação brasileira por meio da RDC 08/2013 estabelece 0,005 g de limite de SO₂ residual em 100 ml de água de coco (BRASIL, 2013). Por causa da rápida deterioração da água de coco como consequência de mecanismos de degradação bioquímicos e microbianos, existe uma grande necessidade de obter uma visão sobre as mudanças na qualidade da água de coco esterilizada.

Em estudos anteriores, observou-se que a água de coco processada termicamente apresenta uma cor rosada sob o armazenamento, e esta mudança de cor aparece em uma condição de subprocessamento (Fo ou taxa de letalidade menor que 3 minutos a 121°C) e sem adição de sulfito. A mudança de cor não aparece em um processo UHT normal, com letalidade acima de 3 minutos.

As espécies de sulfito ajudam a estabilizar a cor do produto, ao mesmo tempo melhoram o sabor e a aparência de vários produtos (RUIZ-CAPILLAS; JIMÉNEZ-COLMENERO, 2009). De acordo com Damar, Balaban e Sims (2009), o aparecimento da cor rosada em água de coco processada termicamente e depois armazenada é devido possivelmente à aeração e ao calor.

Ressonância magnética nuclear (RMN) é uma importante ferramenta analítica tanto para análise de misturas complexas, como no controle de qualidade de alimentos (SILVA *et al.*, 2012; CHOZE *et al.*, 2013), no entanto, considerando o fato de que os dados de RMN têm gerado matrizes altamente complexas com uma grande similaridade espectral, a análise visual

pode ser inviável. Espectroscopia de RMN tem a vantagem de requerer pouca preparação de amostra, o que a torna mais representativa. Este fato é extremamente importante porque é muito útil para avaliar o processo de esterilização, sendo a primeira vez utilizada a RMN e a análise quimiométrica aplicada à avaliação da composição água de coco sob o processamento térmico.

Portanto, juntamente com a RMN, a quimiometria pode ser adotada para empregar ferramentas matemáticas no tratamento de dados químicos e para a exploração de dados (ALVES FILHO *et al.*, 2012). Purkayastha *et al.* (2012) estudaram os efeitos da adição de ácido L-ascórbico na qualidade de água e coco micro-filtrada utilizando RMN e observaram que, em média, os sinais do próton α -raminopiranosil anomérico, açúcares livres ou alcoóis de açúcares foram principalmente os presentes. RMN tem demonstrado ser uma ferramenta eficaz em sumos de fruta e na fabricação de bebidas (CUNY *et al.*, 2008; SPRAUL *et al.*, 2009). Jagannathan *et al.* (1995) estudaram a água de coco madura através de ressonância magnética (MRI) e verificou regiões de açúcar também (5.1 a 5.5).

O objetivo deste trabalho foi realizar a avaliação quantitativa dos compostos metabólicos primários de amostras de água de coco esterilizada por UHT, utilizando RMN e quimiometria, principalmente para detectar as possíveis alterações químicas que ocorrem na mesma, durante o processamento.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1 Preparação da amostra e processo de esterilização UHT da água de coco

Cocos verdes (*Cocos nucifera*, L.), com idade de maturação entre 6 e 7 meses, colhidos no estado do Ceará, Brasil.

A unidade de esterilização utilizada foi montada na planta piloto do laboratório de produtos agroindustriais na EMBRAPA. O processo de esterilização UHT foi efetuado utilizando temperaturas de 136 °C e 110 °C e fluxo controlado para 8 segundos de tempo de retenção usando um trocador de calor tubular que compreende o aquecimento do produto, aquecimento da água, a retenção do produto final e resfriamento, com um sistema de recirculação de água de arrefecimento (*chiller*) Armfield FT63, e envasado sob condições assépticas. A água de coco de cada lote (1, 2, e 3) foi envasada assepticamente em garrafas de vidro de 210 mL e fechadas com tampa rosqueada de plástico. Em cada experimento, a água de coco foi descongelada e adicionada de metabissulfito de sódio em quantidade calculada

para teor de sulfito de 40 mg L⁻¹. Seis tratamentos foram realizados, diferenciados pela temperatura de aquecimento e a adição de sulfito como descrito na Tabela 1.

Tabela 1 - Condições de processamento térmico UHT e da adição de sulfito nos tratamentos de água de coco.

Tratamento	Temperatura (°C)*	Sulfito (mg.L ⁻¹)
Controle	-	0
Controle com sulfito	-	40
136°C	136	0
136°C com sulfito	136	40
110°C	110	0
110°C com sulfito	110	40

*o tempo de retenção de 8 s para todos tratamentos.

4.2.2 Espectroscopia de RMN e identificação molecular

Alíquotas de 3 ml de cada amostra foram transferidas para um tubo de falcon e centrifugadas a 3.000 rpm durante 15 minutos. Deste total, 130 µL das amostras foram transferidas para tubos de ensaio e misturada com 20 µL de EDTA e 350 µL de CD 3 OD-d 4 (metanol tetradeuterado 98%) contendo 1% da solução estoque de 3-trimetilsilil- de sódio (TMSP-2,2,3,3-d4 98% pureza) e, em seguida, transferidos para tubos de RMN de 5 mm (ALVES FILHO *et al.*, 2012)

Os espectros de RMN foram adquiridos em um espectrômetro Agilent 600 MHz (14,1 T), equipado com uma sonda One Probe[®] de 5 mm de diâmetro interno (H-F/15N-31P) de detecção inversa. Foram realizados utilizando a sequência de impulsos PRESAT para supressão de água (4,98). Para aquisição do espectro de RMN de ¹H, foram feitas 64 varreduras com pulso de 6,50 µs (calibrado para 90°), e uma largura espectral de 12 mg.L-1. As análises foram processadas com um fator de multiplicação exponencial igual a 0,3 Hz. A correção de fase foi realizada manualmente para cada espectro e a correção da linha de base foi aplicada ao longo de toda a gama espectral.

Experimentos bidimensionais (2D) de RMN foram adquiridos utilizando as sequências de pulso contidas na literatura. Experimentos de 1H-1H COSY foram obtidos com uma largura espectral de 18,028.1 Um dos títulos de 1H-13C HSQC foram adquiridos com um atraso na evolução de 1,7 ms para um 1J média (C, H) de 145 Hz; com matriz de dados 1442 × 200; 80 varrimentos por incremento A identificação dos componentes dentro das amostras de água de coco foi realizada por meio de experimentos com 1H-1H COSY

(Correlation Spectroscopy), ^1H - ^{13}C HSQC (Heteronuclear Single Quantum Coherence) e HMBC (Heteronuclear Single Quantum Coherence). Os resultados foram comparados com os dados existentes nas bases de dados de acesso e relatos na literatura aberta.

4.2.2.1 Análise de Quantificação

Sacarose, frutose, e β -glicose, etanol e ácido málico foram quantificadas pelo método de referência externo. Neste método, a integração total de uma solução padrão de sacarose foi usada para calibrar o equipamento. Por conseguinte, os dados da sonda são atualizados com todos os parâmetros necessários para a determinação da concentração de uma amostra desconhecida.

4.2.2.2 Análises Quimiométricas

Os espectros de ^1H NMR foram utilizados como dados de entrada para o programa AmixTM a Análise de Componentes Principais (ACP) para criar uma visão geral e mostrar as tendências, agrupamentos e valores discrepantes nos dados com nível de confiança de 95%. Análises quimiométricas foram realizadas utilizando a quintuplicata de seis tratamentos de água de coco: dois tratamentos sem esterilização (controle ou *in natura* e controle com adição de SO_2^2); dois tratamentos (A e B) foram esterilizados a $136^\circ\text{C} / 8\text{s}$; dois tratamentos (C e D) foram esterilizados a $110^\circ\text{C} / 8\text{s}$. Nos tratamentos B e D foi adicionado sulfito (SO_2^2)(40 mg L^{-1}). As ACP foram realizadas utilizando dois grupos de espectros de ^1H RMN: espectro total de δ 0,84 a 8,54; e região alifática - δ 0,84 a 3,02.

Para a análise de componentes principais (ACP), cada espectro foi dividido em regiões de 0,04 δ . Os espectros foram divididos em 145 regiões espectrais para ACP usando espectros completo e em 44 regiões usando apenas a região alifática. A área de influência da supressão de água de acordo com o perfil de saturação (δ 4,62 a δ 5,15) foi excluída do processo.

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após o processamento, apenas o tratamento submetido a $110^\circ\text{C}/8\text{s}$ sem sulfito mostrou cor rosada durante o armazenamento à temperatura ambiente, e este resultado foi

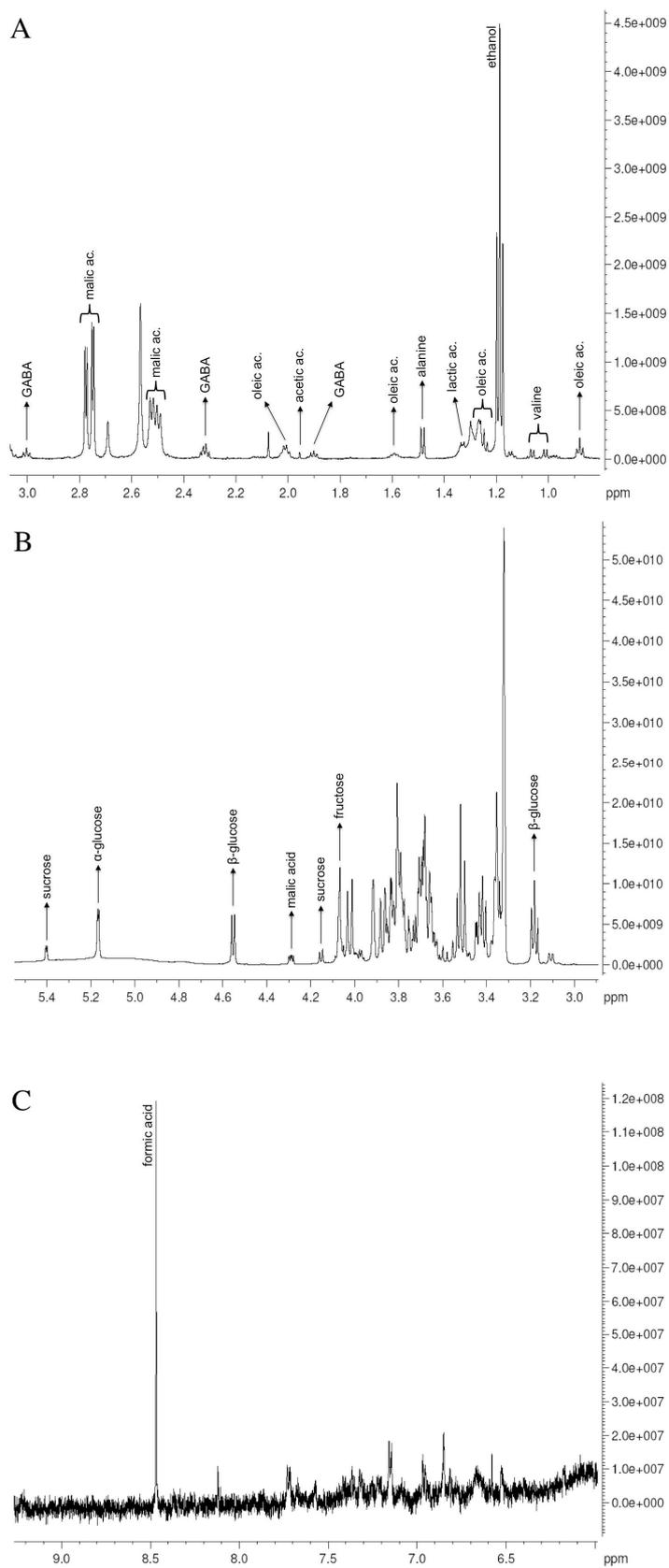
consistente em todas as repetições do tratamento. A adição de sulfito nesta condição impediu a formação de cor rosa na água de coco, bem como o tratamento térmico UHT de 136°C/8s.

Durante o armazenamento sob temperatura ambiente, o tempo necessário para o surgimento da cor rosada variou de 1 a 7 dias. Após duas semanas, a cor foi desaparecendo e, aparentemente, sendo aglomerada e depositada no fundo da embalagem. As amostras de todos os tratamentos, em um total de 36 amostras, com ou sem cor rosada foram analisadas por 1H RMN e a análise quimiométrica foi usada para identificar os componentes e diferenciá-los, correlacionando a cor rosada e as diferenças devido à intensidade do tratamento por calor e o efeito da adição de sulfito.

4.3.1 Identificação dos metabólitos primários

Os espectros de 1H-13C HSQC NMR apresentados na Figura 1 mostram que as amostras de água de coco contêm um nível elevado de açúcar e estruturas alifáticas, principalmente cadeias alquila. A água de coco é uma mistura e / ou uma solução de várias biomoléculas, incluindo amino ácidos aromáticos (tirosina), ácidos cítrico, tartárico e málico, hidrocarbonetos aromáticos que conferem sabor e outros. Em geral, o espectro de 1 H de RMN de água de coco apresenta compostos em três regiões diferentes, apresentadas na Figura 1, em que região A corresponde a -carbonílico e hidrogênio (δ 0,8 a 3,0), região B : hidrogênio carbinólico (δ 3,0 a 5,5), e alfa carbonílica/ resíduo de alquila na região C. (δ 6,0 a 9,0). Espectros de RMN dos compostos apresentados em duas regiões diferentes (A e B) mostraram que a água de coco compreende um elevado nível de açúcar e estruturas alifáticas. A presença de aminoácidos, ácidos orgânicos e açúcares em água de coco têm sido relatados anteriormente por vários autores (PURKAYATSHA *et al.*, 2012; VIGLIAR *et al.*, 2006; YONG *et al.*, 2009). Basicamente, os prótons aldeídicos e aromáticos em (C) apresentaram apenas um composto: ácido fórmico a δ 8.43. Sacarose, glicose, frutose, etanol e ácido málico foram os principais compostos orgânicos da água de coco.

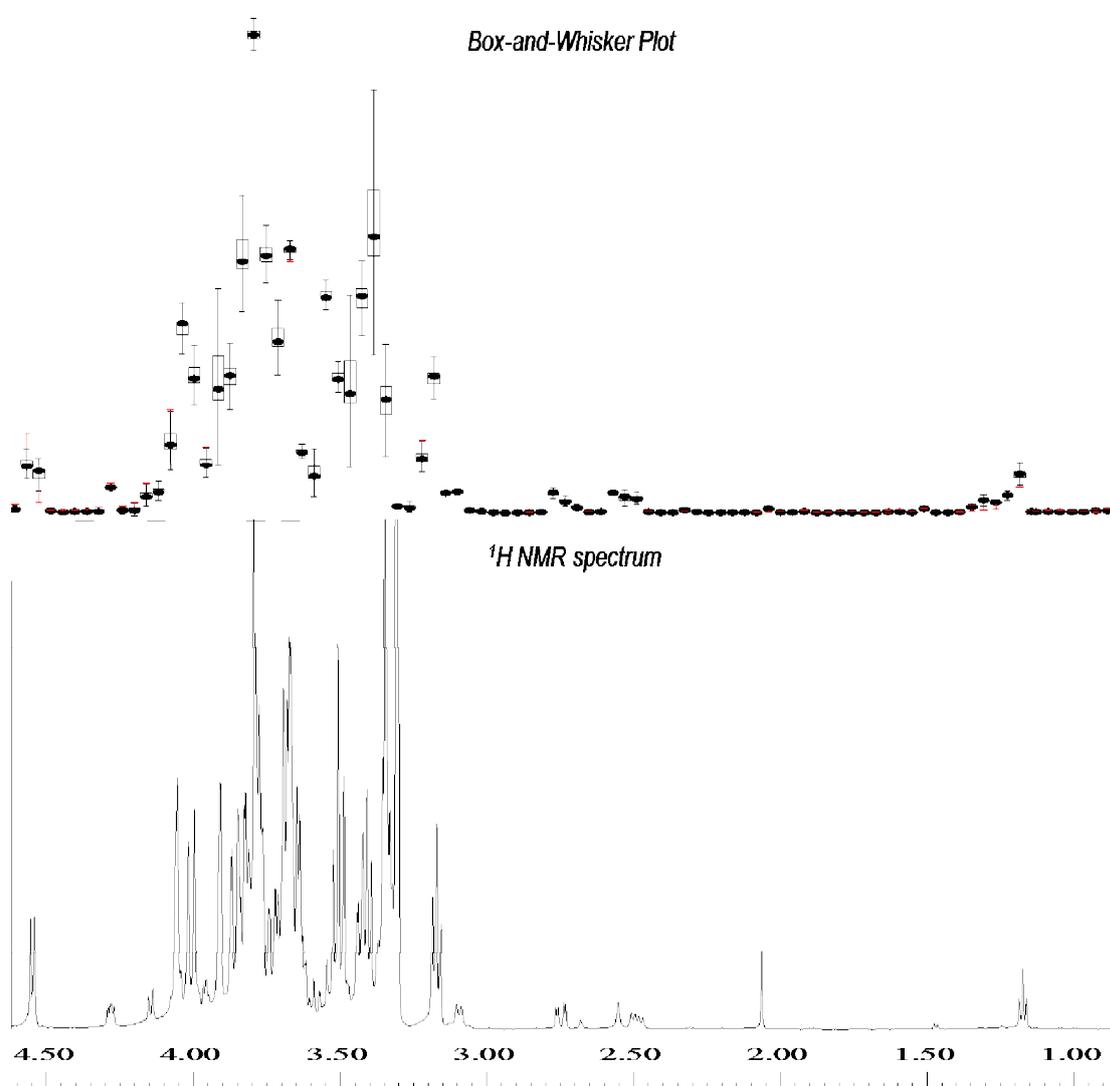
Figura 1 - (A) Representação espectral de ^1H NMR de água de coco na região expandida de 1,0-3,0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (B) a região expandida de 3,0-6,0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ e (C) e na região expandida de 6,0-10,0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$.



4.3.2 Análise quimiométrica

A análise das regiões espectrais foi realizada para investigar sua variação comparando todos os espectros de ^1H NMR para observar as regiões mais importantes para a ACP (Figura 2). A Figura 2 mostra também um espectro de ^1H RMN representativo para ilustrar as regiões do espectro que tinham maior variação no banco de dados. Portanto, esta análise revelou que os compostos possuem maior variação entre os tratamentos (nível de confiança 95%).

Figura 2 - Análise de Box-and-whisker das regiões espectrais das amostras



A análise quimiométrica foi realizada para investigar as diferenças na composição da água de coco sob as duas diferentes temperaturas de processamento térmico e para avaliar a

adição de sulfito como efeito antioxidante. Portanto, a ACP foi aplicada para reduzir a dimensionalidade dos dados originais em dois PCs e para auxiliar na interpretação de dados multivariados. A ACP foi aplicada aos tratamentos: controle; controle com a adição de sulfito; 136 °C; 136 °C com a adição de sulfito; 110 °C e 110 °C com a adição de sulfito, que estão apresentadas na Figura 3A. A Figura 3B representa a análise de ACP desenvolvida para os mesmos tratamentos, a fim de detectar um comportamento detalhado entre eles. A ACP no lado superior (A) da figura foi desenvolvida com todos os tratamentos e a ACP no lado inferior (B) foi desenvolvido usando apenas as amostras processadas termicamente para avaliar o efeito dos tratamentos térmicos.

Os escores de PC1 *versus* PC2 mostram a tendência de separação dos tratamentos com 98,4% e 97,2% da variância total nos gráficos "A" e "B", respectivamente. As pontuações do gráfico "A" mostram o agrupamento dos tratamentos depois de 110 °C e a amostra controle com a adição de sulfito em valores positivos de PC1, e as amostras após processamento a 136 °C e controle sem adição de sulfito em valores negativos do mesmo PC. O gráfico de "B" mostra mais detalhadamente a separação entre os tratamentos processados. Nos dois gráficos mostram a sacarose, β -glicose, etanol e ácido málico como os compostos que tem mais variação na concentração, após o processamento de água de coco.

Em geral, as amostras processadas a temperaturas mais baixas e com a adição de sulfito apresentam maior concentração de açúcares e etanol. No entanto, o sulfito preserva a sacarose mais do que a glicose. Estas alterações de teores de açúcares em água de coco podem ser devido à formação de sacarose à custa de frutose e glicose (TAN *et al.*, 2014). A diminuição da quantidade de ácido málico, após esterilização a 136 °C, com e sem a adição de sulfito pode aumentar o valores de pH da água de coco e alterar o sabor (MILLER *et al.*, 1997). Segundo Mahnot *et al.* (2014), o efeito do pH e acidez titulável pode ser atribuído à adição de sulfito.

Uma análise de ACP foi utilizada para detalhar a avaliação da região alifática (0,84 a 3,02). A análise de ACP na Figura 4A foi desenvolvida com os tratamentos: controle; controle com a adição de sulfito; 136 °C; 136 °C com a adição de sulfito; 110 °C; e 110 °C com a adição de sulfito. A Análise de CP na Figura 4B foi desenvolvida apenas com as amostras tratadas termicamente para detectar um comportamento específico entre elas. A ACP no lado superior foi desenvolvida com todas as amostras e a ACP no lado inferior foi desenvolvido usando apenas as amostras tratadas termicamente, a fim de detalhar os resultados.

Os escores do ACP na Figura 4A da região alifática com 91,8% da variância total mostrou um agrupamento principal dos tratamentos com adição de sulfito em valores negativos de PC1, e sem adição de sulfito em valores positivos de PC1. O gráfico de "B" (90,7% da variância total) foi desenvolvido para exibir maiores detalhes das separações de diferentes tratamentos. Os dois gráficos mostraram os ácidos oléico e málico como os compostos principais para diferenciar os tratamentos. As temperaturas mais elevadas afetaram mais a concentração de ácido málico, mas não afetou o ácido oléico.

Em geral, os grupos de compostos são afetados de modo diferente, dependendo da fonte de processamento, como mostrado por análise de ACP. A temperatura de processamento foi o parâmetro que mais teve efeito na sacarose e no ácido málico. A adição de sulfito preserva o etanol, já temperaturas mais baixas, sem adição de sulfito, preserva glicose.

Os compostos que tiveram uma alta variação na concentração e que não apresentaram ressonâncias sobrepostas foram quantificados. Os resultados são apresentados na Figura 5. A partir da descrição dos dados, as mesmas tendências em análise quimiométrica foram identificadas na concentração de sacarose, α -glicose, frutose, etanol, e ácido málico, corroborando a análise quimiométrica.

Figura 4 - Sistema de escores de PC1 vs. PC2 para a região alifática da água de coco: (A) usando todos os espectros; (B) após o processamento.

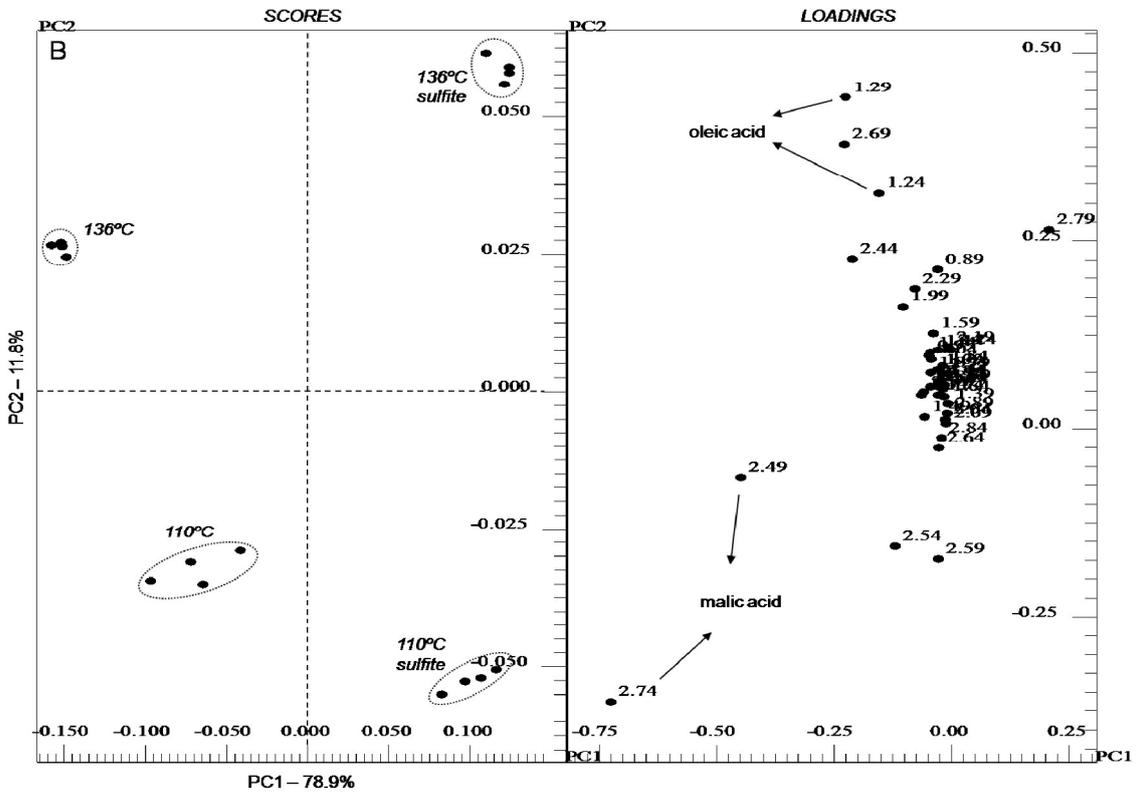
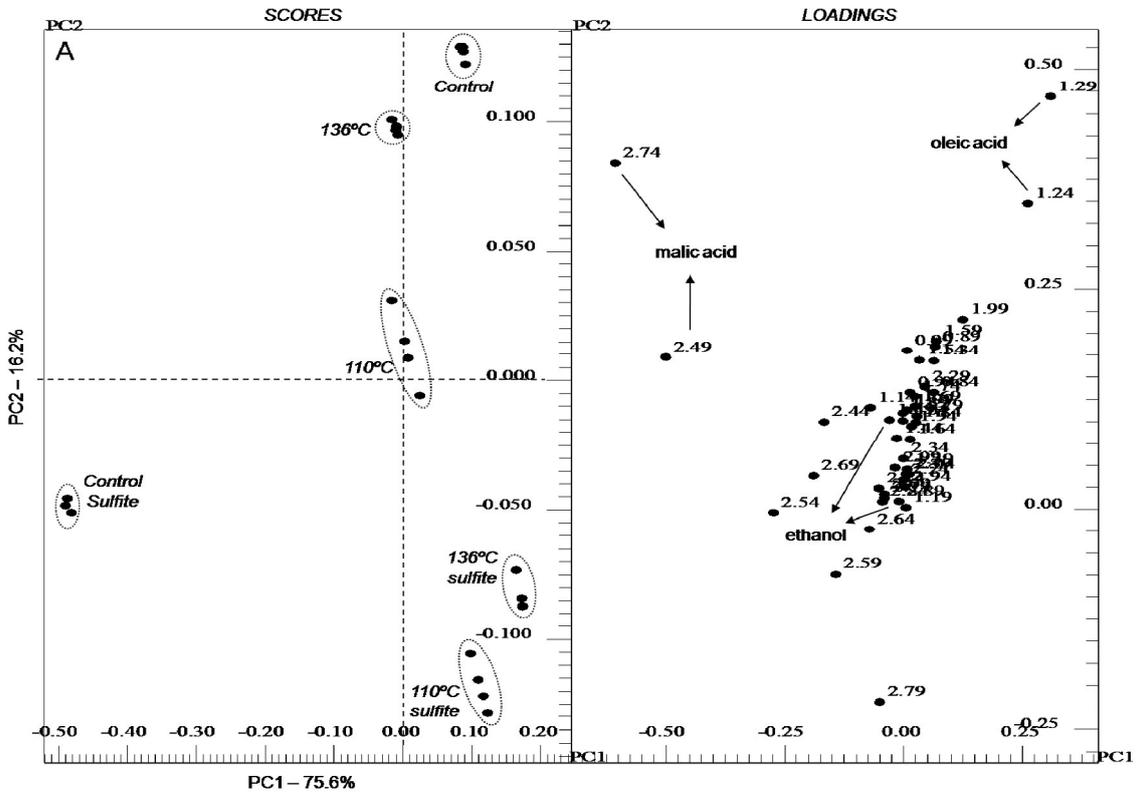
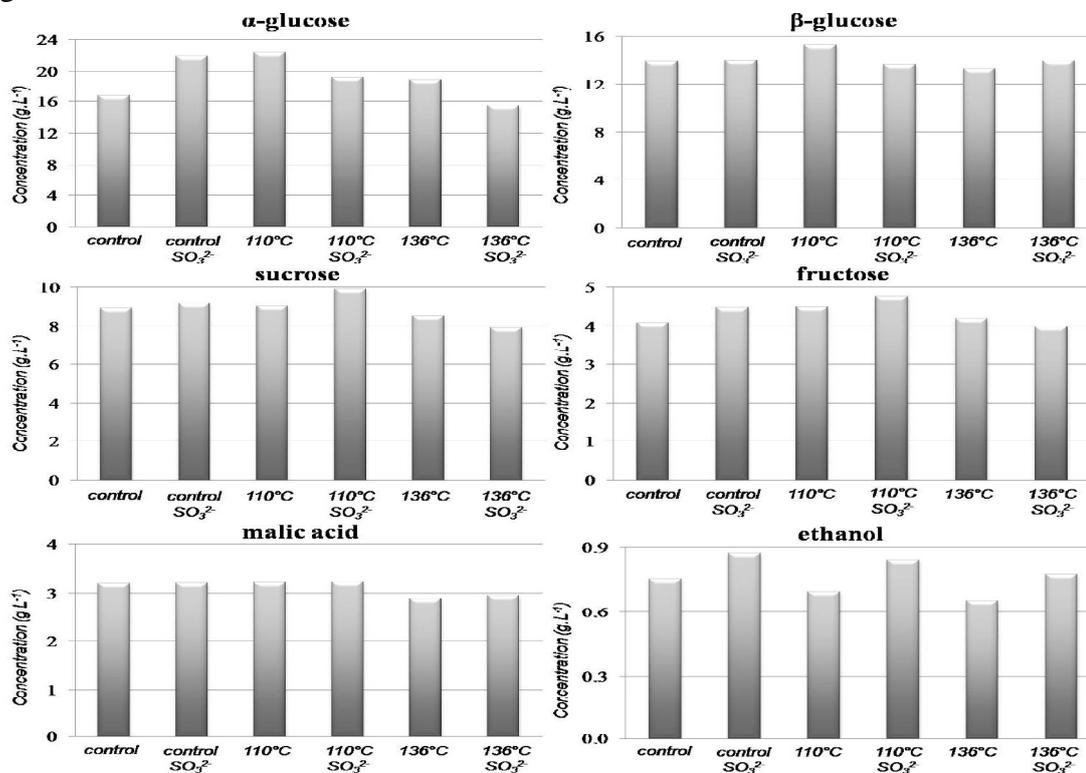


Figura 5 - Concentrações em (g.L^{-1}) de sacarose, frutose, e α -glicose, etanol e ácido málico na água de coco.



A temperatura mais baixa e a adição de sulfito preservam as concentrações dos compostos quantificados. Glicose foi encontrada como sendo o principal composto orgânico em água de coco (15 g.L^{-1}), mesmo apenas quantificar a conformação beta. Enquanto a concentração de ácido málico diminuiu 8% na temperatura de processamento de 136°C e não alterou em 110°C de processamento. A adição de sulfito aumentou a concentração de etanol em média 14% em todos os tratamentos em comparação com os tratamentos sem adição de sulfito. A temperatura de 136°C com a adição de sulfito reduziu em 12,6% a concentração de sacarose, mas não afetou a quantidade de glicose. A condição de processo que utiliza temperaturas mais elevadas levou a hidrólise de sacarose e a redução de açúcar. O ligeiro aumento na concentração de sacarose e glicose após tratamento térmico a 110°C pode estar relacionado com o aumento da sua disponibilidade nas amostras, o que pode ser devido à sua extração da suspensão do endosperma (CHEN *et al.*, 2012), bem como a utilização de temperaturas mais lentas, que evita a degradação dos açúcares da água de coco. No entanto, mais estudos são necessários para estabelecer como essas variações afetam o gosto da água de coco.

Os resultados da RMN de ^1H associados à quimiometria, mostraram pequenas diferenças entre os tratamentos, e os principais componentes foram sacarose, frutose, e β -glicose, etanol, ácido málico e ácido oléico. Apesar de a quimiometria ser capaz de estabelecer grupos, foram observadas pequenas diferenças nos diversos tratamentos. As diferenças observadas foram pequenas e não podem ser relacionadas com a mudança de cor observada na água de coco submetida a $110\text{ }^\circ\text{C}$ ou com a mudança de sabor ocorrida após o tratamento térmico. A utilização de sulfito no tratamento 110°C foi efetivo para impedir a formação de cor rosada. Outras análises de HPLC-MS (cromatografia líquida de alto desempenho acoplado a espectrometria de massa) são recomendados para identificar o componente químico que causa tal cor ou alterações do paladar durante o processamento UHT de água de coco.

4.4 CONCLUSÕES

Foi possível avaliar a variabilidade dos metabolitos primários de água de coco sob diferentes processos de esterilização. A análise quimiométrica mostrou que a água de coco esterilizada a $136\text{ }^\circ\text{C}$ apresentou grandes mudanças na composição orgânica, e o tratamento com menores temperaturas de processamento ($110\text{ }^\circ\text{C}$) e com adição de sulfito preservou a sacarose, glicose, etanol e ácido málico. No entanto, de acordo com os resultados quantitativos, estas variações não foram significativas na composição da água de coco como um todo, mesmo em condições de armazenamento à temperatura ambiente.

REFERÊNCIAS

- ALVES FILHO, E. G. *et al.* Discrimination of sugarcane according to cultivar by ¹H NMR and chemometric analyses. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, [S.l.] v. 23, n. 2, p. 273-279, 2012.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 8, de 06 de março de 2013. Aprova o uso de aditivos alimentares para produtos de frutas e de vegetais e geléia de mocotó. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 06 mar. 2013. Disponível em: < [ortal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/1cac3e004edacb17a9e8ab8a610f4177](http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/1cac3e004edacb17a9e8ab8a610f4177) >. Acesso em: 25 jan. 2014.
- CAMPBELL-FALCK, D.*et al.* The intravenous use of coconut water. **American Journal of Emergency Medicine**, New York, v. 18, n. 1, p.108-111, 2000.
- CAMPOS, C. F.; SOUZA, P. E. A.; COELHO, J. V.; GLÓRIA, M. M. B. A .Chemical composition, enzyme activity and effect of enzyme inactivation on flavor quality of green coconut water. **Journal Food Processing Preservation**, College Park , v. 20, n. 6, p. 487-500, 1996
- CHOZE, R. *et al.* Distinction between a transgenic and a conventional common bean genotype by 1 H HR-MAS NMR. **Food Chemistry**, [S.l.] v. 141, n. 3, p. 2841-2847, 2013.
- CHEN, D.; SHARMA, S.K.; MUDHOO, A. **Handbook on applications of ultrasound : sonochemistry for sustainability**. 2012, Boca Raton, FL: CRC Press
- CUNY, M. *et al.* Fruit juice authentication by 1H NMR spectroscopy in combination with different chemometrics tools. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, [S.l.] v. 390, n. 1, p. 419-427, 2008.
- DAMAR, S., BALABAN, M. O., & SIMS, C. A. Continuous dense-phase CO₂ processing of a coconut water beverage. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 44, n. 4, p.666-673, 2009.
- JAGANNATHAN, N. R.; GOVINDARAJU, V.; RAGHUNATHAN, P. In vivo magnetic resonance study of the histochemistry of coconut (*Cocos nucifera*).**Magnetic Resonance imaging**, [S.l.], v. 13, n. 6, p. 885-892, 1995.
- MAHNOT, N. K.; KALITA, D.; MAHANTA, C. L.; CHAUDHURI, M. K. Effect of additives on the quality of tender coconut water processed by nonthermal two stage microfiltration technique. **LWT-Food Science and Technology**, [S.l.], v. 59, n. 2. p. 1191-1195, 2014.
- MILLER, N.J.; RICE-EVANS, C.A. The relative contributions of ascorbic acid and phenolic antioxidants to the total antioxidant activity of orange and apple fruit juices and blackcurrant drink. **Food Chemistry**, [S.l.],v. 60, n. 3, p. 331-337, 1997.

- PURKAYASTHA, M. *et al.* Effect of L-ascorbic acid addition on the quality attributes of micro-filtered coconut water stored at 4 °C. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, [S.l.], v. 16, p. 69-79, 2012.
- REDDY, K. V.; DAS, M.; DAS, S. K. Non-thermal sterilization of green coconut water for packaging. **Journal of Food Quality**, Iowa, v. 30, n. 4, p. 466-480, 2007
- RUIZ-CAPILLAS, C., & JIMÉNEZ-COLMENERO, F. Application of flow injection analysis for determining sulphites in food and beverages: A review. **Food Chemistry**, v. 112, n. 2, p. 487-493, 2009.
- SANTOSO, U.; KUBO, K.; OTA, T.; TADOKORO, T.; MAEKAWA, A. Nutrient composition of kopyor coconuts (*Cocos nucifera* L.). **Food Chemistry**, [S.l.] v. 57, n. 2, p. 299-304, 1996
- SILVA, D.L.V da *et al.* Características físicas, físico-químicas e sensoriais da água de frutos de coqueiro anão verde oriundo de produção convencional e orgânica. **Ciência e Agrotecnologia**, [Lavras], v. 33, n. 4, p. 1079-1084, 2009.
- SILVA, L. *et al.* 1H HRMAS NMR Spectroscopy and Chemometrics for Evaluation of Metabolic Changes in *Citrus sinensis* Caused by *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, [S.l.]v. 23, n. 6, p. 1054-1061, 2012.
- SPRAUL, Manfred *et al.* NMR-based multi parametric quality control of fruit juices: SGF profiling. **Nutrients**, [Australia], v. 1, n. 2, p. 148-155, 2009.
- 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, n.1, p. 121-128, 2014.
- VIGLIAR, R.; SDEPANIAN, V. L; NETO, U.F. Biochemical profile of coconut water from coconut palms planted in an inland region. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v. 82, n.4, p. 308-312, 2006.
- YONG, J. W.; GE, L.; NG, Y. F.; TAN, S.N. The Chemical Composition and Biological Properties of Coconut (*Cocos nucifera* L.) Water. **Molecules**, [New York], v.14, n. 12, p. 5144, 2009.

CAPÍTULO 5

AVALIAÇÃO DO EFEITO DA ESTERILIZAÇÃO UHT NA BIOACESSIBILIDADE *IN VITRO* DOS COMPOSTOS FENÓLICOS E DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE TOTAL EM SUCO MISTO DE ÁGUA DE COCO E FRUTAS TROPICAIS

RESUMO

Compostos antioxidantes derivados de frutas estão envolvidos na prevenção de doenças degenerativas e o uso de métodos para conservação destes produtos também precisam ser estudados. O objetivo foi determinar o impacto do processamento térmico (esterilização UHT e pasteurização) na bioacessibilidade de compostos bioativos de uma bebida mista funcional desenvolvida com base em água de coco e frutas tropicais (polpa de abacaxi, acerola, açaí e cajá). Foi realizada uma digestão gastrointestinal *in vitro* do *blend in natura*, blend esterilizado por UHT, blend pasteurizado, bem como água de coco pura e o blend sem a adição da água de coco (somente as frutas). Polifenóis extraíveis totais (PET) e atividade antioxidante total (AAT) foram avaliados antes e depois de uma digestão gastrointestinal simulada. Todos os compostos avaliados diminuíram significativamente após a simulação gastrointestinal *in vitro* quando comparados à amostra original. O *blend in natura* e o *blend* esterilizado por UHT apresentaram maiores valores de PET, com médias de 28,2 e 33% respectivamente. A água de coco e o *blend* esterilizado apresentaram maiores frações bioacessíveis para AAT, com valores médios de 36,7 e 20,4%, respectivamente. O *blend* esterilizado por UHT apresentou maior valor de fração bioacessível para os compostos bioativos relevantes em suco de frutas, sendo um tratamento promissor.. A digestão gastrointestinal simulada é uma ferramenta útil que permite avaliar a influência da matriz alimentar e do processamento térmico sobre a bioacessibilidade de compostos bioativos.

Palavras-chave: *blend*, tratamento térmico, atividade antioxidante, digestão *in vitro*.

5.1 INTRODUÇÃO

A água de coco (*Cocos nucifera* L.) tem sido bastante consumida nos últimos anos em embalagens de conveniência, sendo uma bebida natural com capacidade de reposição de eletrólitos. Por sua vez, as frutas tropicais são fonte de compostos antioxidantes, tais como compostos fenólicos, vitaminas, carotenoides e minerais, que contribuem com potencial quimiopreventivo (ALMEIDA *et al.*, 2011). O desenvolvimento de sucos tropicais mistos, incluindo a água de coco, atende à demanda de consumidores por produtos derivados de frutas, permitindo planejar a composição funcional, pela mistura de polpas e sucos.

A diversificação de produtos que aproveitem as características e particularidades nutricionais e sensoriais da água de coco torna-se uma estratégia interessante para agregação de valor aos produtos de frutas tropicais, fornecendo ao mercado um alimento versátil, de conveniência e com apelo funcional, vindo de encontro às demandas de mercado para um produto dessa natureza.

Novas tendências mundiais tem se aliado à funcionalidades de produtos alimentares que são demonstradas através dos compostos bioativos de frutas com impacto positivo em várias doenças crônicas (COSTA *et al.*, 2013). Neste sentido, muitas pesquisas têm focado nas combinações de frutas exóticas com outros ingredientes em bebidas (CARBONELL-CAPELLA *et al.*, 2013). Os sucos de frutas tropicais são reconhecidos como saudáveis devido à presença de componentes funcionais, descritos pela capacidade antioxidante, teor de polifenóis, vitamina C, antocianinas e sais minerais, e muito se discute sobre a estabilidade desses componentes frente a processos de conservação e tempo de estocagem (RODRÍGUEZ-ROQUE *et al.*, 2013).

A recomendação é de que um suco tropical misto com alto teor de polifenóis e atividade antioxidante deve fornecer, com o consumo de uma porção de 200 mL (aproximadamente um copo): metade do valor de capacidade antioxidante recomendado na dieta mediterrânea, definida em 3.500 μ M trolox/dia, teor de fenólicos totais maior que 150 mg de ácido gálico equivalente/100g.

De acordo com Matsuura *et al.* (2004), as bebidas mistas de frutas apresentam muitas vantagens, pois acontece a combinação de diversos aromas e sabores, além da contribuição com valores nutricionais. Diferentes bebidas mistas a base de água de coco já foram desenvolvidas, como água de coco com caju (CARVALHO, 2005), água de coco com maracujá (BRITO; FARO; MELO FILHO, 2004) e água de coco com abacaxi e acerola (PEREIRA *et al.*, 2009).

Entre os diversos processos de conservação disponíveis no mercado, destaca-se o processo *Ultra High Temperature* (UHT) como o de maior impacto econômico para este setor. Essa tecnologia tem se mostrado eficiente para diversos sucos e também para água de coco. O processo de pasteurização é o mais aplicado, pois se utiliza baixa temperatura (80°C a 90°C) e acredita-se que nessa condição os efeitos deletérios do calor são reduzidos. Cada um dos processos tem a sua própria especificidade, como intensidade, aplicabilidade a certos produtos, resultando em aumento da vida útil destes alimentos (RAMASWAMY; MARCOTTE, 2006; SILVA; GIBBS, 2009). Dependendo do atributo de interesse, o processamento térmico de produtos alimentares pode conduzir a uma perda de qualidade nas propriedades como a textura, sabor e cor ou, ainda, a uma melhoria da qualidade dos alimentos (KNOCKAERT *et al.*, 2012; ARNOLDI, 2001).

Vários estudos tem focado sobre os compostos funcionais presentes nos sucos mistos (KIM *et al.*, 2016; PEREIRA *et al.*, 2015; WURLITZER *et al.*, 2015; FARAONI *et al.*, 2012; PEREIRA *et al.*, 2009), no entanto, em termos nutricionais, não é suficiente apenas para determinar o teor total de nutrientes. É necessário conhecer a bioacessibilidade, que é a quantidade do composto liberado da matriz durante a digestão gastrointestinal que se torna disponível para absorção no intestino (LECNIEWICZ *et al.*, 2012). O elemento difundido através de uma membrana semipermeável na fase intestinal é usado como uma medida da bioacessibilidade deste elemento (KULKARNI *et al.*, 2007).

O desenvolvimento de novos produtos caracterizados como funcionais, formulados a partir de água de coco e sucos de frutas, processados por sistema de esterilização UHT, necessita de avaliações de impacto das condições de processo sobre seus componentes. Diante do exposto, o objetivo deste capítulo é avaliar o impacto do processo de esterilização em sistema UHT (*Ultra High Temperature*) sobre os componentes funcionais e bioacessibilidade de um *blend* de água de coco com frutas tropicais.

5.2 MATERIAL E MÉTODOS

5.2.1 Material

Foram utilizados cocos verdes (*Cocos nucifera L.*), estágio de maturação 6 (entre o sexto e sétimo mês de maturação), oriundos do Perímetro Irrigado Curu-Paraipaba-CE. Para a preparação das formulações foram utilizadas polpas de frutas tropicais congeladas de acerola (*Malpighia puniceifolia*), açaí (*Euterpe oleracea*), cajá (*Spondias mombim L.*) e abacaxi

(*Ananas comosus* L.) adquiridas no comércio local de Fortaleza- CE. As polpas de frutas foram pesadas e homogeneizadas juntamente com a água de coco e o açúcar, utilizando um liquidificador industrial.

Foram avaliados o *blend* pasteurizado, *blend* esterilizado por UHT, *blend in natura* (controle), *blend* sem água de coco (somente as polpas de frutas, sem adição de água) e somente a água de coco. Foram realizadas três repetições para cada tratamento.

5.2.2 Formulação do blend com água de coco e sucos tropicais mistos

A formulação foi baseada em projeto anterior desenvolvido por Wurlitzer *et al.* (2015) que analisou um suco tropical misto composto de acerola, abacaxi, açaí e cajá e água mineral. A partir de então, seguiu-se a diluição com igual volume de água de coco e ajustados o teor de sólidos solúveis para 12° Brix com sacarose, obtendo suco tropical misto (*blend*) com percentual total de polpa de 50%, teor mínimo exigido em legislação no Brasil, de acordo com a Instrução Normativa 12/2003 (BRASIL, 2003). Utilizaram-se as proporções descritas na Tabela 1:

Tabela 1- Formulação para obtenção de sucos mistos de água de coco com frutas tropicais com alto teor de polifenóis e atividade antioxidante.

Ingredientes	Formulação %
Água de coco	47,0%
Abacaxi	20,0%
Acerola	10,0%
Açaí	10,0%
Cajá	10,0%
Açúcar (sacarose)	3,0%

5.2.2.1 Processamento térmico UHT e Pasteurização dos blends

O suco misto resultante foi submetido a um tratamento térmico de pasteurização a 90°C por 60 segundos (FREITAS *et al.*, 2006; RODRIGUEZ-ROQUE *et al.*, 2015), utilizando o trocador de calor tubular Armifield FT74, envasado a quente em garrafas de vidro de 210 mL, e fechamento com tampa plástica rosqueável. Após o fechamento, as garrafas foram resfriadas em água corrente e armazenadas a temperatura ambiente (28±2°C), em ausência de luz.

O processo de esterilização UHT do *blend* de água de coco com frutos tropicais utilizou condições de 136°C/8s, utilizando um trocador de calor tubular, da marca Armfield, modelo FT74, seguido de resfriamento rápido, utilizando um sistema de refrigeração com recirculação de água gelada (chiller) da marca Armfield FT63, e envase em condições assépticas, em embalagens de vidro de 210 mL, com tampa plástica rosqueável.

O suco misto *in natura* (sem processamento térmico) e a água de coco foram utilizados como controles.

As amostras foram mantidas congeladas (-18°C) até o momento das análises.

5.2.3 Digestão Gastrointestinal simulada *in vitro* (Teste de Bioacessibilidade)

As digestões com fluido gástrico e fluido intestinal simulados foram preparadas de acordo com metodologia proposta por Moura e Canniatti-Brazaca (2006) para avaliar a bioacessibilidade dos polifenóis totais (PT) e da atividade antioxidante total (AAT). A simulação da digestão gastrointestinal foi feita com pepsina solubilizada em de HCl 0,1 mol L⁻¹ durante a fase gástrica e sais de bile-pancreatina, solubilizada com NaHCO₃ 0,1 mol L⁻¹ na fase intestinal. Adicionaram-se, a 20 g de cada amostra de suco misto, 100 mL de HCl 0,01 mol L⁻¹ e ajustou-se o pH para 2 com solução de HCl 2 mol L⁻¹. Após o ajuste do pH, adicionaram-se 3,2 mL de pepsina no meio, agitou-se e colocou em banho termostatizado a 37° C durante 2 horas. Essa etapa simula a digestão do alimento que ocorre no estômago. Ao final da primeira etapa ocorreu a titulação com solução 0,5 mol L⁻¹ de NaOH até pH 7,5 para simular o valor de pH encontrado no meio intestinal de um indivíduo. A diálise foi realizada durante duas horas em membranas de diálise contendo NaHCO₃ 0,1 mol L⁻¹ equivalente à acidez titulável. Após o ajuste do pH, o conteúdo foi colocado em membranas de diálise e agitado em banho termostatizado a 37° C durante 30 minutos. Após isso se adicionaram 5,0 mL da solução de pancreatina e sais de bile no meio em banho termostatizado a 37° C durante 2 horas. Essa etapa simula a digestão do alimento que ocorre no intestino. Ao final desta etapa de 2 horas de digestão, o conteúdo da membrana chamado de dialisado foi retirado e as amostras foram armazenadas sob congelamento (-18°C) até o instante das análises, sendo este extrato dialisado utilizado na determinação de polifenóis extraíveis totais e atividade antioxidante total.

5.2.4 Análises dos compostos bioativos

5.2.4.1 Preparação dos extratos para polifenóis extraíveis totais e atividade antioxidante total

Os extratos dos tratamentos que não sofreram simulação gastrointestinal foram preparados seguindo metodologia proposta por Larrauri, Ruperez e Saura-Calixto (1997), com algumas modificações. As amostras foram pesadas em tubos de centrifuga e submetidas à extração sequencial, inicialmente com 4 mL de solução de metanol/água (50:50, v/v) a temperatura ambiente durante 1h. Os tubos foram centrifugados a 15.000 rpm durante 15 minutos e o sobrenadante foi filtrado em papel de filtro e recuperado. Em seguida, foram adicionados ao resíduo da primeira extração, 4 mL da solução de acetona/água (70:30, v/v), a temperatura ambiente. Extraíu-se durante 60 minutos e posteriormente foi realizada a centrifugação e a recuperação do extrato nas mesmas condições citadas anteriormente. Os extratos de metanol e acetona foram combinados e em seguida, completou-se o volume final do balão (10 mL) com água destilada. Estes extratos foram mantidos em temperatura de -18°C antes das determinações de PET e AAT.

5.2.4.1.1 Polifenóis extraíveis totais (PET)

Os polifenóis totais antes e após digestão gastrointestinal simulada *in vitro* (dialisado) foram determinados utilizando o reagente de Folin-Ciocalteu. Foi tomada a curva padrão de ácido gálico como referência, conforme metodologia descrita por Larrauri, Ruperez e Saura-Calixto (1997). A determinação foi realizada usando alíquotas que variaram de 50 μ L a 100 μ L do extrato, completados até 1000 μ L com água destilada, em seguida foi adicionado 1,0 mL do reagente Folin-Ciocalteu (1:3), 2,0 mL de NaCO₃ 20% e 2,0 mL de água destilada em tubos de ensaio, sendo em seguida homogeneizados e deixados em repouso por 30 minutos. Depois de decorrido o tempo, a leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro a 700 nm, usando como referência a curva padrão de ácido gálico entre 0 μ g.mL⁻¹ e 50 μ g.mL. Os resultados foram expressos em miligramas de equivalente ao ácido gálico por 100 gramas de suco (mg GAE. 100g⁻¹).

A porcentagem bioacessível foi calculada de acordo com Briones-Labarca *et al.*, (2011):

$$\% \text{ Bioacessível} = 100 \times (F/G)$$

Equação (1)

Onde F é o conteúdo de compostos dialisáveis e G corresponde ao teor de compostos da amostra nativa

5.2.4.2 Atividade antioxidante total (AAT)

A atividade antioxidante total antes e após digestão gastrointestinal simulada *in vitro* (dialisado) foi determinada por meio de ensaio com o radical ABTS, método desenvolvido por Miller *et al.* (1993), com modificações propostas por Rufino *et al.* (2010). O ensaio com o radical livre ABTS, foi obtido pela reação do ABTS (7 mM) com persulfato de potássio (2,45 mM). O sistema foi mantido em repouso e em temperatura ambiente (25°C), durante 16 horas em ausência de luz.

Uma vez formado o radical ABTS^{•+}, diluiu-se com etanol até obter um valor de absorvância entre 700 a 705 nm. A leitura espectrofotométrica foi realizada exatamente após 6 minutos, a partir da mistura do radical com o extrato em um comprimento de onda de 734 nm. Utilizou-se uma alíquota de 30 µL de amostra e 3 mL de radical ABTS^{•+}. A curva gerada a partir dos valores das absorvâncias e das concentrações das amostras foi calculada. Os valores da AAT foram obtidos substituindo-se o valor de y_0 na equação da reta pela absorvância equivalente a 1000 µM Trolox, sendo os resultados expressos em µM Trolox.g⁻¹.

5.2.5 Análise estatística

O experimento foi conduzido de acordo com um delineamento inteiramente casualizado, com três repetições de cada tratamento. Os resultados foram avaliados estatisticamente por análise de variância. Foi aplicado teste de Tukey a 5% de probabilidade, quando observada diferença significativa entre as médias.

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O conteúdo de polifenóis totais e atividade antioxidante total dos *blends* de água de coco com frutos tropicais (*in natura*, pasteurizado e esterilizado por UHT), do *blend* sem água de coco e somente da água de coco diminuíram durante a simulação da digestão gastrointestinal, ocorrendo diferença significativa (P < 0,05) antes e após a digestão (Tabela 2).

Tabela 2 – Valores médios para PET e AAT para água de coco, *blend* sem água de coco, *blend* com água de coco *in natura*, *blend* com água de coco pasteurizado e *blend* com água de coco esterilizado por UHT*

Tratamentos	Nativo	Conteúdo após digestão simulada <i>in vitro</i>	Redução após digestão (%)	Bioacessibilidade após digestão (%)
Polifenóis Extraíveis Totais (PET)				
Água de coco	2,28 ± 0,06 ^{A,d}	0,44 ± 0,00 ^{B,d}	80,7	19,2
<i>Blend</i> sem água de coco	97,22 ± 1,30 ^{A,a}	25,06 ± 0,39 ^{B,a}	74,3	25,7
<i>Blend</i> com água de coco (<i>in natura</i>)	50,88 ± 3,03 ^{A,b}	14,36 ± 0,42 ^{B,b}	71,8	28,2
<i>Blend</i> água de coco pasteurizado	52,12 ± 1,64 ^{A,b}	12,41 ± 0,33 ^{B,c}	76,2	23,8
<i>Blend</i> água de coco esterilizado	44,40 ± 1,17 ^{A,c}	14,67 ± 0,75 ^{B,b}	67,0	33,0
Atividade Antioxidante Total (AAT)				
Água de coco	3,24 ± 0,12 ^{A,d}	1,06 ± 0,15 ^{B,d}	63,3	36,7
<i>Blend</i> sem água de coco	28,54 ± 0,31 ^{A,a}	3,24 ± 0,55 ^{B,a}	88,7	11,3
<i>Blend</i> com água de coco (<i>in natura</i>)	22,63 ± 1,36 ^{A,b}	2,05 ± 0,54 ^{B,bc}	90,9	9,1
<i>Blend</i> água de coco pasteurizado	12,97 ± 1,79 ^{A,c}	1,44 ± 0,14 ^{B,cd}	88,7	11,3
<i>Blend</i> água de coco esterilizado	13,32 ± 1,68 ^{A,c}	2,69 ± 0,31 ^{B,ab}	79,6	20,4

PET – Polifenóis Extraíveis Totais, expressos em mg AG. 100 mL⁻¹; AAT – Atividade Antioxidante Total, expressa em μ M Trolox.g⁻¹Médias com letras maiúsculas diferentes na mesma linha são diferentes estatisticamente pelo teste de Tukey (P<0,05).

Médias com letras minúsculas diferentes na mesma coluna, para a mesma análise, diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

5.3.1 Polifenóis extraíveis totais (PET)

Os valores de PET bioacessíveis após a digestão gastrointestinal simulada expressa em mg / 100 mL são apresentados na Tabela 2.

O conteúdo de PET nas amostras nativas analisadas variou significativamente de 2,28 mg AG. 100 mL⁻¹, para a água de coco, a 97,22 mg AG. 100 mL⁻¹, para o *blend* sem água de coco (Tabela 2). Os tratamentos *blend in natura* e *blend* pasteurizado não apresentaram diferença significativa (P>0,05) para o conteúdo de PET.

O efeito do tratamento sobre a concentração de compostos fenólicos depende do tipo de alimento, da natureza e da localização de compostos fenólicos presentes nos alimentos, assim como da intensidade e da duração do tratamento (CHANDRASEKARA; NACZK; SHAHIDI, 2012).

He *et al.* (2016) ao avaliarem o perfil de fenólicos em suco de laranja tratado por pasteurização, verificaram que não houve diferença significativa entre os conteúdos de naringina e luteolina no suco *in natura* e pasteurizado. Rodriguez-Roque *et al.* (2014) também

não observaram diferença na concentração de compostos fenólicos entre os tratamentos *in natura* e pasteurizado de bebida mista de frutas a base de laranja. Odriozola-Serrano *et al.* (2009) avaliaram a variação em compostos fenólicos totais em suco de tomate após pasteurização e observaram que não houve diferenças significativas no teor de fenólicos totais entre sucos de tomate não tratados e tratados termicamente. Alguns estudos demonstraram que o tratamento térmico perturba a parede celular, favorecendo a liberação de substâncias fenólicas em células de frutas e, portanto, melhorando a extração do conteúdo de PET (WANG; HE; CHEN, 2014).

Wurlitzer *et al.* (2015) desenvolveram formulação composta por acerola, cajá, açai e abacaxi diluídos com água mineral e submetidos a pasteurização (85°C/ 15 a 30s). Os autores relataram valores de 121,5 mg. AG. 100 mL⁻¹ para PET, resultado superior ao encontrado nesta pesquisa. Esse resultado pode ser devido ao uso de temperaturas de pasteurização mais elevadas e tempos de retenção mais longos (90°C/60s), contribuindo para a degradação de compostos fenólicos frente ao calor.

Foi observada uma diminuição estatisticamente significativa (P <0,05) de 72-80,8% na fração dialisada dos PET iniciais do *blend* de água de coco com suco de frutas.

As condições alcalinas suaves alcançadas durante a digestão intestinal juntamente com as possíveis interações entre os polifenóis e os outros componentes, tais como enzimas, poderiam explicar a diminuição significativa (P <0,05) observada (CARBONNEL-CAPELLA *et al.*, 2015).

Bouayed *et al.* (2011), na análise de diferentes variedades de maçãs, observaram redução significativa no teor de PET após a digestão *in vitro*. Pavan *et al.* (2014), ao avaliarem extratos de mamão, observaram decréscimo de 65%. Diferente do encontrado nesta pesquisa, Bermudez-Soto *et al.* (2007) e He *et al.* (2016) verificaram perda de 22,53% e 37,3%, respectivamente, para suco de frutas vermelhas e suco de maçã pasteurizados.

Quando o método de digestão *in vitro* utiliza uma membrana de diálise, como foi o caso desta pesquisa, as perdas de compostos fenólicos são sempre mais elevadas, atingindo mais do que 70% em suco de laranja (GIL-IZQUIERDO *et al.*, 2002) e suco de romã (PEREZ-VICENTE *et al.*, 2002), determinado através do método de Folin-Ciocalteu. A instabilidade das substâncias fenólicas sob a condição neutra do trato intestinal pode provavelmente ser atribuída à sua susceptibilidade a degradação por oxidação, polimerização, a transformação, e a complexação com íons metálicos, proteínas, e as fibras (LI, *et al.*, 2012; RODRIGUEZ-ROQUE *et al.*, 2014).

O *blend* sem água de coco apresentou teor bioacessível de 25,7% do conteúdo de PET ao ser comparado com o valor antes do processo de diálise. Vale ressaltar que o *blend in natura* e o *blend* processado por UHT, ambos com água de coco apresentaram níveis de 28,0% e 33%, respectivamente. O *blend* com água de coco pasteurizado exibiu menor fração bioacessível (23%). Rodriguez-Roque *et al.* (2015) apresentaram fração bioacessível de 17,20% em conteúdo de PET em suco misto de kiwi, laranja, abacaxi e manga pasteurizado a 90°C/60s, resultado inferior ao encontrado nesta pesquisa.

As diferenças em relação aos efeitos do processamento e da matriz na bioacessibilidade destes tratamentos podem ser atribuídos às diferentes composições fenólicas das polpas de abacaxi, açaí, acerola e cajá presentes no suco misto, bem como dos diferentes tratamentos térmicos aplicados

5.3.2 Atividade antioxidante total

Os resultados contendo os valores antes e após a simulação gastrointestinal *in vitro* estão apresentados na Tabela 2.

A atividade antioxidante total (AAT) exibiu maiores valores médios para o *blend* sem água de coco. Como aconteceu no PET, a água de coco também revelou menores conteúdos de AAT.

O *blend in natura* apresentou maior valor médio (22,62 \approx M Trolox.g⁻¹) entre os tratamentos avaliados. Não foi verificada diferença estatística significativa (P>0,05) entre os tratamentos pasteurizado e esterilizado por UHT, com médias de 12,96 e 13,32 \approx M Trolox.g⁻¹, respectivamente.

Wurlitzer *et al.* (2015) avaliaram um *blend* pasteurizado com os mesmos frutos utilizados nesta pesquisa e encontraram valor médio de 11,4 \approx M Trolox.g⁻¹ resultado aproximado ao encontrado nesse trabalho (12,97 \approx M Trolox.g⁻¹).

A diminuição na atividade antioxidante de sucos após o processamento poderia ser explicada pela oxidação de certos compostos bioativos, tais como a vitamina C e alguns constituintes fenólicos.

Houve uma redução na atividade antioxidante total em todos os tratamentos avaliados após a digestão. Foram observados menores níveis de 1,06 μ MolTrolox g para a água de coco e maiores níveis para *blend* sem adição de água de coco, com 3,24 \approx M Trolox.g⁻¹, seguido do *blend* esterilizado por UHT, que mostrou valor médio de 2,67 \approx M Trolox.g⁻¹ (Tabela 2).

O percentual de atividade antioxidante bioacessível depois da digestão simulada *in vitro* foi de 20,4% para o *blend* esterilizado por UHT. Ao contrário do que vários estudos apontaram, o *blend* submetido a tratamento térmico por UHT apresentou valores medianos de AAT, mesmo após exposição ao calor. Sugere-se que os *blends* de frutas tropicais com água de coco podem ser fontes de antioxidantes bioacessíveis.

Rodriguez-Roque *et al.* (2015), ao avaliarem a bioacessibilidade *in vitro* da AAT de bebida mista composta de laranja, kiwi, abacaxi e manga tratada termicamente por pasteurização, encontraram fração digerível de 22,1%, resultado superior ao encontrado nesta pesquisa para o *blend* pasteurizado, 11,3% e próximo ao observado no *blend* esterilizado por UHT, 20,4%.

He *et al.* (2016) estudaram a bioacessibilidade da AAT em suco de maçã, suco de uva e suco de laranja pasteurizados a 90°C/30s, e encontraram redução de cerca de 30% nos níveis de AAT do suco de uva quando comparados as amostras originais.

5.4. CONCLUSÕES

A aplicação da digestão gastrointestinal simulada demonstrou que apenas uma pequena fração, na ordem de 10 a 30% do teor inicial de polifenóis e de atividade antioxidante total de todos os *blends* de água de coco com frutas tropicais se tornam bioacessíveis.

O *blend* de água de coco com suco de frutas tropicais esterilizado por UHT apresentou maiores frações bioacessíveis de polifenóis extraíveis totais e atividade antioxidante total quando comparado ao tratamento pasteurizado, indicando ser uma alternativa interessante na industrialização de produtos de frutas com enfoque saudável.

Estes dados sugerem que a matriz e o processamento de alimentos regulam a bioacessibilidade de compostos bioativos. Portanto, estes fatores nutricionais devem ser considerados quando bebidas funcionais são desenvolvidas, de modo a evitar interações indesejáveis que podem reduzir a biodisponibilidade destes compostos.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, M. M. B. *et al.* Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil. **Food Research International**, [S.l.], v. 44, p. 2155-2159, 2011.
- ARNOLDI, A. Thermal processing and food quality: analysis and control. **Thermal Technologies in Food Processing**, p. 138-159, 2001.
- BERMÚDEZ-SOTO, M.-J.; TOMÁS-BARBERÁN, F.-A.; GARCÍA-CONESA, M.-T. Stability of polyphenols in chokeberry (*Aronia melanocarpa*) subjected to in vitro gastric and pancreatic digestion. **Food Chemistry**, [S.l.], v. 102, n. 3, p. 865-874, 2007.
- BOUAYED, J., HOFFMANN, L., BOHN, T. Total phenolics, flavonoids, anthocyanins and antioxidant activity following simulated gastro-intestinal digestion and dialysis of apple varieties: bioaccessibility and potential uptake. **Food Chemistry**, [S.l.], v. 128, n. 1, p.14-21, 2011.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos. Brasília: Ministério da Saúde**, 2005, 1018p.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa nº 12, de 4 de setembro de 2003. **Regulamento técnico geral para fixação dos padrões identidade e qualidade gerais para suco tropical**. Disponível em: <[http://www.ivegetal.com.br/Legislação Referenciada/IN nº 12 de 4 de setembro de 2003.htm](http://www.ivegetal.com.br/Legislação%20Referenciada/IN%20nº%2012%20de%204%20de%20setembro%20de%202003.htm)>. Acesso em: 10 jul. 2014.
- BRIONES-LABARCA, V. *et al.* Effects of high hydrostatic pressure (HHP) on bioaccessibility, as well as antioxidant activity, mineral and starch contents in Granny Smith apple. **Food Chemistry**, [S.l.], v. 128, p. 520-529, 2011.
- CARBONELL-CAPELLA, J. M. *et al.* High pressure processing of fruit juice mixture sweetened with Stevia rebaudiana Bertoni: Optimal retention of physical and nutritional quality. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, [S.l.] v. 18, p. 48-56, 2013.
- CARBONELL-CAPELLA, Juana M. *et al.* Effect of Stevia rebaudiana addition on bioaccessibility of bioactive compounds and antioxidant activity of beverages based on exotic fruits mixed with oat following simulated human digestion. **Food chemistry**, v. 184, p. 122-130, 2015.
- CARVALHO, J. M. *et al.* Água-de-coco: Propriedades nutricionais, funcionais e processamento. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 27, n. 3, p. 437-452, 2006.
- CHANDRASEKARA, Anoma; NACZK, Marian; SHAHIDI, Fereidoon. Effect of processing on the antioxidant activity of millet grains. **Food Chemistry**, [S.l.] v. 133, n. 1, p. 1-9, 2012.
- COSTA, A. G. V. *et al.* Bioactive compounds and health benefits of exotic tropical red-black berries. **Journal of Functional Foods**, [S.l.], v. 5, n. 2, p. 539-549, 2013.

FARAONI, A. S. *et al.* Desenvolvimento de um suco misto de manga, goiaba e acerola utilizando delineamento de mistura. **Ciência Rural**, v. 42, n. 5, p. 911-917, 2012.

FREITAS, C. A.S. *et al.* Storage stability of acerola tropical fruit juice obtained by hot fill method. **International Journal of Food Science & Technology**, [S.l.], v. 41, n. 10, p. 1216-1221, 2006.

GIL-IZQUIERDO, A.I; ZAFRILLA, P.; TOMÁS-BARBERÁN, F. A. An in vitro method to simulate phenolic compound release from the food matrix in the gastrointestinal tract. **European Food Research and Technology**, [S.l.], v. 214, n. 2, p. 155-159, 2002.

HE, Z. *et al.* High pressure homogenization processing, thermal treatment and milk matrix affect in vitro bioaccessibility of phenolics in apple, grape and orange juice to different extents. **Food Chemistry**, [Washington], v. 200, p. 107-116, 2016.

KIM, D.B. *et al.* Antioxidant and anti-ageing activities of citrus-based juice mixture. **Food Chemistry**, [S.l.], v.194, n.1, p. 920-927, 2016.

KNOCKAERT, G. *et al.* Lycopene degradation, isomerization and *in vitro* bioaccessibility in high pressure homogenized tomato puree containing oil: Effect of additional thermal and high pressure processing. **Food Chemistry**, [S.l.], v. 135, n. 3, p. 1290-1297, 2012.

KULKARNI, S. D. *et al.* Evaluation of bioaccessibility of some essential elements from wheatgrass (*Triticum aestivum* L.) by *in vitro* digestion method. **Food Chemistry**, [S.l.], v.103, n. 2, p.681-688, 2007.

LARRAURI, J. A., RUPÉREZ, P., SAURA-CALIXTO, F. Effect of drying temperature on the stability of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomace peels. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [S.l.], v.45, p.1390-1393, 1997.

LECNIEWICZ, A.; KRETOWICZ, M.; WIERZBICKA, K.; YRNICKI, W. In Vitro Bioavailability of Mineral Nutrients in Breakfast Cereals. **Journal of Food Research**, v. 1, n. 2, 2012.

LI, Na *et al.* Kinetic study of catechin stability: effects of pH, concentration, and temperature. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [S.l.], v. 60, n. 51, p. 12531-12539, 2012.

MATSUURA, F.C.A *et al.* Sensory acceptance of mixed nectar of papaya, passion fruit and acerola. **Scientia Agricola**, v. 61, n. 6, p. 604-608, 2004.

MILLER, N.J. *et al.* A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. **Clinical Science**, [S.l.], v. 84, n. 4, p. 407-412, 2003.

MOURA, N. C.; CANNIATTI-BRAZACA, S.G. Avaliação da disponibilidade de ferro de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) em comparação com carne bovina. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, [Paráiba], v. 26, p. 270-276, 2006.

ODRIOZOLA-SERRANO, I. *et al.* Carotenoid and phenolic profile of tomato juices processed by high intensity pulsed electric fields compared with conventional thermal treatments. **Food Chemistry**, [S.l.], v. 112, n. 1, p. 258-266, 2009

PAVAN, V.; SANCHO, R. A.S.; PASTORE, G. M. The effect of *in vitro* digestion on the antioxidant activity of fruit extracts (*Carica papaya*, *Artocarpus heterophyllus* and *Annona marcgravii*). **LWT-Food Science and Technology**, [S.l.], v. 59, n. 2, p. 1247-1251, 2014.

PEREIRA, A. C. S.; SIQUEIRA, A. M. A.; FARIAS, J. M.; MAIA, G. A.; FIGUEIREDO, R. W.; SOUSA, P. H. M. Desenvolvimento de bebida mista à base de água de coco, polpa de abacaxi e acerola. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, [Venezuela], v, 59, n. 4, p. 441- 447, 2009.

PEREIRA, A.C.S. *et al.* Synergistic, additive and antagonistic effects of fruit mixtures on total antioxidant capacities and bioactive compounds in tropical fruit juices. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, [Venezuela], v. 65, p. 119-127, 2015.

PÉREZ-VICENTE, A.; GIL-IZQUIERDO, A.; GARCÍA-VIGUERA, C. *In vitro* gastrointestinal digestion study of pomegranate juice phenolic compounds, anthocyanins, and vitamin C. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [Washington], v. 50, n. 8, p. 2308-2312, 2002.

RAMASWAMY, M.; MARCOTTE, S. Food processing: Principles and application. Florida CRC Pres: Boca Raton, 2006.

RODRÍGUEZ-ROQUE, M. J. *et al.* Changes in vitamin C, phenolic, and carotenoid profiles throughout *in vitro* gastrointestinal digestion of a *blended* fruit juice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [S.l.], v. 61, n. 8, p. 1859-1867, 2013.

RODRÍGUEZ-ROQUE, M. J. *et al.* *In vitro* bioaccessibility of health-related compounds as affected by the formulation of fruit juice-and milk-based beverages. **Food Research International**, [S.l.], v. 62, p. 771-778, 2014.

RODRÍGUEZ-ROQUE, María Janeth *et al.* Impact of food matrix and processing on the *in vitro* bioaccessibility of vitamin C, phenolic compounds, and hydrophilic antioxidant activity from fruit juice-based beverages. **Journal of Functional Foods**, [S.l.], v. 14, p. 33-43, 2015.

RUFINO, M. S. M., ALVES, R. E., BRITO, E. S., JIMÉNEZ, J. P., CALIXTO, F. S., MANCINI-FILHO, J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, [S.l.], v.121, p. 996-1002, 2010.

SAURA-CALIXTO, F.; GOÑI, I. Definition of the mediterranean diet based on bioactive compounds. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, [S.l.], v. 49, p.45-152, 2009.

SILVA, F. V. M.; P.; GIBBS, P.A. Principles of thermal processing: pasteurization. R. Simpson (Ed.), *Engineering Aspects of Thermal Food Processing*, CRC Press, Boca Raton, Florida, pp. 13-48, 2009.

WANG, T.; HE, F.; CHEN, G. Improving bioaccessibility and bioavailability of phenolic compounds in cereal grains through processing technologies: A concise review. **Journal of Functional Foods**, [S.l.], v. 7, p. 101-111, 2014.

WURLITZER, N.J. *et al.* **Obtenção de Sucos Mistos de Frutas Tropicais com Alto Teor de Polifenóis e Capacidade Antioxidante**. Comunicado Técnico. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2015.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

- ✓ O uso de temperaturas de esterilização UHT evita o surgimento da cor rosada, que é observada em amostras subprocessadas ($F_0 < 3 \text{ min}$);
- ✓ A cor rosada não está relacionada ao escurecimento enzimático;
- ✓ O uso do sulfito na água de coco esterilizada por UHT influencia somente na mudança de cor, evitando escurecimento.
- ✓ O binômio mais indicado para a esterilização por UHT é $136^\circ\text{C}/8\text{s}$, com concentração de sulfito variando de 20 a 40 mg.L^{-1}
- ✓ A água de coco, de forma geral, apresentou estabilidade físico-química, química e enzimática frente ao armazenamento de 180 dias sob temperatura ambiente ($28^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$), com exceção da turbidez e da coordenada a^*
- ✓ Pode-se observar aceitação sensorial positiva dos produtos processados por UHT.
- ✓ A espectroscopia por RMN revelou que a água de coco é um alimento rico em açúcares, como sacarose, frutose e glicose, etanol e ácido málico, sendo a conformação β - glicose a majoritária.
- ✓ A temperatura elevada de esterilização ($136^\circ\text{C}/8\text{s}$) é o parâmetro que mais afeta os constituintes principais da água de coco.
- ✓ A RMN (Ressonância Magnética Nuclear) não detectou o composto responsável pela cor rosada, sendo recomendados estudos envolvendo HPLC - MS (cromatografia líquida de alto desempenho acoplado à espectrometria de massa) para identificar o componente químico que causa coloração rosada na água de coco durante o subprocessamento térmico.

APÊNDICES

APÊNDICE A - Quadrado médio (QM) dos parâmetros aceitação global, sabor e intenção de compra da água de coco

FV	GL	Quadrado Médio (QM)		
		Ac. Global	Sabor	Int. Compra
Amostra	1	0,16 ^{NS}	1,69 ^{NS}	0,36 ^{NS}
Provador	51	5,24	6,01	2,79
Erro	51	1,34	1,55	1,22

NS Não significativo ao nível de 5% de probabilidade; FV: Fator de variação; GL: Graus de liberdade.

APÊNDICE B - Quadrado médio (QM) das características químicas e físico-químicas de pH, sólidos solúveis, acidez titulável, L*, a*, b*, enzima peroxidase, turbidez e teor de sulfito de água de coco esterilizada por UHT, com e sem sulfito.

Fonte de variação	GL	QM (Quadrado Médio)								GL	QM
		pH	SST	ATT	L*	a*	b*	POD	Turbidez		
Tratamento (TR)	1	0,8220 ^{NS}	0,010 ^{NS}	0,0124 ^{NS}	5,6090 ^{NS}	0,0196 ^{NS}	2,088 ^{NS}	0,2738 ^{NS}	8,50*		
Erro (a)	4	0,0231	0,004	0,0032	1,7071	0,0150	0,4721	0,1391	1,88		
Tempo (T)	5	0,3441 ^{NS}	0,018 ^{NS}	0,1027*	3,3601 ^{NS}	0,1404*	0,1314 ^{NS}	2,3963 ^{NS}	376,59*	5	3,2758 ^{NS}
Interação T x TR	5	0,4288 ^{NS}	0,0106 ^{NS}	0,0052 ^{NS}	3,5205 ^{NS}	0,0201*	0,4036 ^{NS}	0,1342 ^{NS}	84,89*		
Erro (b)	20	0,1496	0,004	0,0042	2,1397	0,0066	0,1970	0,0544	6,64	17	1,7138
Modelo Linear	1			0,2269 ^{NS}				0,7676*			
Falta de ajuste	4			0,0717*				2,8035*			
Quadrático	2			0,4549 ^{NS}				2,4034			
Falta de ajuste	3			0,0196*				2,3916*			
Cúbico	3			0,0405*							
Falta de ajuste	2			0,0092*							
T Tratamento A											
Modelo Linear	1					0,4337 ^{NS}			1312,96*		
Falta de ajuste	4					0,0418*			36,51 ^{NS}		
Quadrático	2					0,0980 ^{NS}			1320,23 ^{NS}		
Falta de ajuste	3					0,02311*			29,23 ^{NS}		
Cúbico	3					0,0305*			1327,86 ^{NS}		
Falta de ajuste	2					0,0194*			10,80 ^{NS}		
T Tratamento B											
Modelo Linear	1					0,1987*			428,26 ^{NS}		1,9388 ^{NS}
Falta de ajuste	4					0,0017 ^{NS}			133,25*		3,6101 ^{NS}
Quadrático	2					0,0032*			448,09 ^{NS}		1,4552 ^{NS}
Falta de ajuste	3					0,0012*			171,26*		4,3294 ^{NS}
Cúbico	3					0,0003*			852,76 ^{NS}		5,9546 ^{NS}
Falta de ajuste	2					0,0016*			54,25*		3,5168 ^{NS}