



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

MARIA DE FÁTIMA DANTAS LINHARES

**PROCESSAMENTO DE SUCO DE AÇAÍ (*Euterpe oleracea*) POR TECNOLOGIAS
NÃO TÉRMICAS: EFEITOS NOS COMPOSTOS BIOATIVOS E NA ATIVIDADE
DAS ENZIMAS PEROXIDASE E POLIFENOLOXIDASE**

FORTALEZA

2019

MARIA DE FÁTIMA DANTAS LINHARES

PROCESSAMENTO DE SUCO DE AÇAÍ (*Euterpe oleracea*) POR TECNOLOGIAS NÃO
TÉRMICAS: EFEITOS NOS COMPOSTOS BIOATIVOS E NA ATIVIDADE DAS
ENZIMAS PEROXIDASE E POLIFENOLOXIDASE

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

Orientadora: Prof^a. Dra. Sueli Rodrigues.
Coorientadora: Dra. Thatyane Vidal Fonteneles.

FORTALEZA

2019

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)

- L728p Linhares, Maria de Fátima Dantas.
Processamento de suco de açaí (*Euterpe oleracea*) por tecnologias não térmicas : efeitos nos compostos bioativos e na atividade das enzimas peroxidase e polifenoloxidase / Maria de Fátima Dantas Linhares. – 2019.
95 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Fortaleza, 2019.
Orientação: Profa. Dra. Sueli Rodrigues.
Coorientação: Profa. Dra. Thatyane Vidal Fonteneles.
1. Açaí. 2. Não térmicos. 3. Enzimas. 4. Compostos bioativos. I. Título.

CDD 664

MARIA DE FÁTIMA DANTAS LINHARES

PROCESSAMENTO DE SUCO DE AÇAÍ (*Euterpe oleracea*) POR TECNOLOGIAS NÃO
TÉRMICAS: EFEITOS NOS COMPOSTOS BIOATIVOS E NA ATIVIDADE DAS
ENZIMAS PEROXIDASE E POLIFENOLOXIDASE

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

Aprovada em: 22/10/2019.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dra. Sueli Rodrigues (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

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

Prof^a. Dra. Marciane Magnani
Universidade Federal da Paraíba (UFPB)

Aos meus pais, que sempre se dedicaram e fizeram o melhor que podiam por minha formação.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por sua infinita misericórdia e bondade.

À minha família, pelo cuidado, amor e paciência comigo.

Ao meu grande amor Assis Neto, eu agradeço por todo o seu cuidado, carinho, cumplicidade, amor e incentivo. Obrigada por fazer meus dias melhores.

À professora Sueli Rodrigues, pela acolhida, orientação, pela sua paciência, incentivo e confiança em meu trabalho.

À Dra. Thatyane Vidal Fonteles pelas dicas, ajuda, orientação e amizade.

À equipe Labiotec, Dayana, Iane, Maria Karoline, Rhonyelle, Ronyele, Andressa e Elenilson, pela ajuda que me foi dada sempre que pedia socorro e os momentos de risadas e descontração.

Em especial Priscila, Ana Karoline, Elaine e Brenda por toda amizade, apoio, ajuda nos momentos de correria e consolo quando o desânimo batia. Muito obrigada!

Aos meus mentores, Aleff e Grazielle por sua amizade, apoio e conselhos que edificaram minha vida. Sou grata a Deus por suas vidas!

Ao Dr. Edy Sousa de Brito e Marciane Magnani, por aceitarem o convite para compor a banca avaliadora.

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

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), ao Instituto Nacional de Frutos Tropicais (INCT-FT) e a Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP) pelo apoio financeiro.

À Universidade Federal do Ceará pela formação acadêmica.

À Embrapa Agroindústria Tropical pelo processamento térmico.

“O sucesso é a soma de pequenos esforços repetidos dia após dia.” (Robert Collier, 2014)

RESUMO

As tecnologias de processamento não térmicas atraem atenção por terem como objetivo uma menor perda de componentes nutricionais importantes e que não provoquem alterações indesejáveis no alimento. O objetivo desse estudo foi avaliar os efeitos do ultrassom, plasma e luz pulsada nos compostos fenólicos e antocianinas, atividade antioxidante e enzimática (polifenoloxidase e peroxidase) do suco de açaí em comparação ao processamento térmico. A estabilidade, a aplicação de processos sequenciais e a bioacessibilidade dos compostos bioativos também foram avaliados. A primeira etapa desse estudo consistiu no desenvolvimento de um planejamento experimental para avaliar os efeitos dessas tecnologias isoladamente no suco de açaí. As melhores condições de processamentos encontradas foram aplicadas novamente, assim como a aplicação sequencial dessas tecnologias (ultrassom e plasma). Por último foi avaliado a bioacessibilidade dos compostos bioativos. Os resultados mostraram aumento nos fenólicos totais nos sucos tratados por ultrassom ($3079,16 \pm 25,00$ mg ácido gálico/L), plasma ($1384,37 \pm 43,75$ mg ácido gálico/L) e processamento térmico ($1945,83 \pm 58,00$ mg ácido gálico/L) em relação a amostra controle. Nas antocianinas foi verificado aumento apenas pelo plasma ($149,17 \pm 9,95$ mg de cianidina-3-glucosídeo/L) e luz pulsada ($124,74 \pm 5,50$ mg de cianidina-3-glucosídeo/L) em relação a amostra controle. A atividade antioxidante aumentou em todos os processamentos aplicados, dado que o aumento dos compostos fenólicos e antocianinas nos processamentos influencia diretamente a atividade antioxidante. As enzimas PPO e POD mostraram resistência aos tratamentos aplicados. A maior redução da atividade enzimática residual encontrada foi no processamento por plasma frio para enzima peroxidase ($55,44 \pm 4,61$). Quanto a estabilidade, estes foram avaliados através da análise de componentes principais (PCA). O menor período de armazenamento (0 e 30 dias), mostrou maiores quantidades de vitamina C, antocianinas, PPO, POD, DPPH, ABTS e FRAP, que diminuiram após maiores períodos de armazenamento (45 e 60 dias). As amostras armazenadas por 45 e 60 dias apresentaram as maiores quantidades de fenólicos totais. As amostras processadas termicamente independentes do período de armazenamento, diminuiram a atividade residual das enzimas PPO e POD, assim como, a atividade antioxidante determinada pelos métodos DPPH, ABTS e FRAP. Quanto aos tratamentos sequenciais, estes apresentaram aumento na atividade residual das enzimas POD e PPO após o processamento. Foi observado também que no processamento sequencial a ordem de aplicação não apresentou efeito relevante sobre a composição dos sucos de açaí. Em relação a bioacessibilidade dos processamentos sequenciais, os teores de compostos fenólicos

e antocianinas se mostraram com redução de 20 e 67%, respectivamente, após o processo de digestão. Contudo, as tecnologias não térmicas mostraram melhores resultados quando aplicadas individualmente e o período de armazenamento mostrou resultados importantes até 30 dias. Nesse sentido é importante mais estudos para otimizar as variáveis destes processamentos a fim de manter as características funcionais de produtos como sucos de frutas.

Palavras-chave: Açaí. Não térmicos. Enzimas. Compostos bioativos.

ABSTRACT

Non-thermal processing technologies attract attention because they aim to lower the loss of important nutritional components and not causing undesirable changes in food. The aim of this study was to evaluate the effects of ultrasonic, plasma and pulsed light on the phenolic compounds, anthocyanins, antioxidant and enzymatic activity (polyphenoloxidase and peroxidase) of açai juice compared to thermal processing. Stability, application of sequential processes and bioaccessibility of bioactive compounds were also evaluated. The first step of this study consisted of the development of an experimental design to evaluate the effects of these technologies individually in the açai juice. The best processing conditions found were applied again, as well as the sequential application of these technologies (ultrasound and plasma). Finally, bioaccessibility of bioactive compounds was evaluated. The results showed an increase in total phenolics in juices treated by ultrasound ($3079,16 \pm 25,00$ mg gallic acid/L), plasma ($1384,37 \pm 43,75$ mg gallic acid/L) and thermal processing ($1945,83 \pm 58,00$ mg gallic acid/L) compared to the control sample. Regarding anthocyanins, an increase was observed only by plasma ($149,17 \pm 9,95$ mg de cyanidine-3-glucoside/L) and pulsed light ($124,74 \pm 5,50$ mg de cyanidine-3-glucoside/L) compared to the control sample. Antioxidant activity increased in all applied processing, since the increase of phenolic and anthocyanin compounds directly influenced antioxidant activity. The enzymes PPO and POD showed resistance to the applied treatments. The largest reduction in residual enzymatic activity was found in cold plasma processing for peroxidase enzyme (55.44 ± 4.61). Furthermore, the stability was evaluated by principal component analysis (PCA). The shorter storage period (0 and 30 days) showed higher amounts of vitamin C, anthocyanins, PPO, POD, DPPH, ABTS and FRAP, which decreased after longer storage periods (45 and 60 days). The samples stored by 45 and 60 days presented the highest amounts of total phenolics. Thermally processed samples, regardless of storage period, decreased the residual activity of the enzymes PPO and POD, as well as the antioxidant activity determined by the DPPH, ABTS and FRAP methods. As for the sequential treatments, these showed an increase in residual activity of POD and PPO enzymes after processing. It was also observed that in sequential processing the order of application had no relevant effect on the composition of açai juices. Regarding bioaccessibility of sequential processing, phenolic and anthocyanin contents were reduced by 20 and 67% respectively after the digestion process. However, non-thermal technologies showing better results when applied individually and the storage period showed important results up to 30 days. In this context, further studies are important to optimize these

processing variables in order to maintain the functional characteristics of products such as fruit juices.

Keywords: Açai. Non thermal. Enzymes. Bioactive compounds.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
2.1	Tecnologias não térmicas aplicadas na conservação de sucos	16
2.2	Ultrassom	16
2.2.1	<i>Aplicação de ultrassom em sucos de frutas</i>	19
2.3	Plasma	22
2.4	Luz pulsada	26
2.5	Açaí	30
3	PROCESSAMENTOS NÃO TÉRMICOS	33
3.1	Introdução	34
3.2	Material e métodos	35
3.2.1	<i>Preparo do suco</i>	35
3.2.2	<i>Processos não térmicos</i>	35
3.2.2.1	<i>Ultrassom</i>	35
3.2.2.2	<i>Plasma</i>	35
3.2.2.3	<i>Luz pulsada</i>	36
3.2.3	<i>Planejamento experimental</i>	36
3.2.4	<i>Processamento térmico</i>	37
3.2.5	<i>Análise Estatística</i>	37
3.2.6	<i>Análises físico-químicas</i>	38
3.2.6.1	<i>Compostos fenólicos totais</i>	38
3.2.6.2	<i>Quantificação de antocianinas</i>	38
3.2.6.3	<i>Atividade antioxidante</i>	39
3.2.6.4	<i>DPPH</i>	39
3.2.6.5	<i>ABTS</i>	39
3.2.6.6	<i>FRAP</i>	39
3.2.6.7	<i>Atividade enzimática</i>	40
3.2.6.8	<i>Polifenoloxidase (PPO)</i>	40
3.2.6.9	<i>Peroxidase (POD)</i>	40
3.2.6.10	<i>Atividade residual (%)</i>	40
3.3	Resultados e discussão	41

3.3.1	<i>Ultrassom</i>	41
3.3.1.1	<i>Compostos fenólicos totais e antocianinas</i>	41
3.3.1.2	<i>Atividade antioxidante</i>	43
3.3.1.3	<i>Enzimas</i>	45
3.3.2	<i>Plasma</i>	50
3.3.2.1	<i>Compostos fenólicos totais e antocianinas</i>	50
3.3.2.2	<i>Atividade antioxidante</i>	52
3.3.2.3	<i>Enzimas</i>	55
3.3.3	<i>Luz pulsada</i>	59
3.3.3.1	<i>Compostos fenólicos totais, antocianinas e atividade antioxidante</i>	59
3.3.3.2	<i>Atividade enzimática</i>	62
3.3.4	<i>Processamento térmico</i>	63
3.3.4.1	<i>Compostos fenólicos totais, antocianinas e atividade antioxidante</i>	63
3.3.4.1	<i>Atividade enzimática</i>	65
3.4	Processamentos não-térmicos versus processamento térmico	66
3.5	Conclusão	68
4	PROCESSAMENTOS SEQUENCIAIS E ESTABILIDADE	69
4.1	Introdução	70
4.2	Material e métodos	71
4.2.1	<i>Preparo do suco</i>	71
4.2.2	<i>Processos não térmicos</i>	71
4.2.2.1	<i>Plasma</i>	71
4.2.2.2	<i>Ultrassom</i>	72
4.2.2.3	<i>Luz pulsada</i>	72
4.2.3	<i>Tratamento sequencial de ultrassom e plasma</i>	72
4.2.4	<i>Processamentos térmicos</i>	73
4.2.5	<i>Estabilidade do suco</i>	73
4.2.6	<i>Atividade enzimática</i>	74
4.2.7	<i>Compostos fenólicos totais</i>	74
4.2.8	<i>Quantificação de antocianinas</i>	75
4.2.9	<i>Vitamina C</i>	75
4.2.10	<i>Atividade antioxidante</i>	76
4.2.11	<i>Avaliação in vitro dos compostos bioativos</i>	76

4.2.12	<i>Análise quimiométrica</i>	77
4.3	Resultados e discussão	77
4.3.1	<i>Efeito dos processamentos térmicos e não-térmicos nos compostos bioativos e enzimas no armazenamento do suco de açaí</i>	77
4.3.2	<i>Efeito detalhado do processamento não-térmico combinado em comparação com o processamento térmico</i>	80
4.3.3	<i>Bioacessibilidade</i>	83
4.4	Conclusão	85
5	CONCLUSÕES GERAIS	86
	REFERÊNCIAS	87

1 INTRODUÇÃO

Sucos de frutas são geralmente processados por tratamentos térmicos. A escolha desse método de conservação deve-se a sua capacidade de inativar microrganismos (patogênicos e/ou deteriorantes) e enzimas em alimentos, aumentando sua vida de prateleira e estando disponíveis nos supermercados mesmo nos períodos de entressafra das frutas. A desvantagem desse tratamento é o uso de altas temperaturas que podem levar a variações bioquímicas e nutricionais indesejáveis afetando as características de qualidade do produto final (MISRA et al., 2016; PANIWNKYK, 2017). As tecnologias não térmicas de processamento de alimentos são consideradas tecnologias inovadoras que podem proporcionar influência mínima na degradação de compostos e ainda servir como uma ferramenta de auxílio ao processamento térmico. Parâmetros de processamento são investigados afim de se chegar a otimização do processo, com o intuito de se obter um alimento seguro, com retenção máxima de compostos bioativos e inativação de enzimas (BURSAĆ KOVAČEVIĆ et al., 2016).

Técnicas como ultrassom, plasma e luz pulsada têm sido amplamente pesquisadas nos últimos 15 anos (REŽEK JAMBRAK et al., 2017). O uso dessas tecnologias em matrizes alimentares pode desencadear reações que podem interferir na qualidade do alimento no fim do processo. O ultrassom pode ser utilizado tanto para extração de compostos bioativos (LUO et al., 2017), como para pré-tratamento de secagem de alimentos (MAGALHÃES et al., 2017). A extração de compostos bioativos também é observada no plasma frio (RODRÍGUEZ et al., 2017) e luz pulsada (BRAGA et al., 2019). Outra aplicação potencial da luz pulsada é sua ação sobre às enzimas e microrganismos (GÓMEZ-LÓPEZ, 2016; KOUTCHMA, 2017).

A aplicação de tecnologias não térmicas em suco de açaí já é vista na literatura (JESUS; LEITE; CRISTIANINI, 2018; OLIVEIRA et al., 2018). Porém ainda são necessários mais estudos dos efeitos dessas tecnologias nessa matriz alimentar. O processamento térmico utilizado no suco de açaí pode estender o prazo de validade, porém os efeitos negativos desse tipo de processamento podem levar a rejeição do consumidor. Assim, surge à necessidade de avaliar o efeito das tecnologias não térmicas nos compostos bioativos, atividade antioxidante e enzimática desse tipo de suco. O estudo do efeito do ultrassom, plasma e luz pulsada no suco de açaí será apresentado na forma de artigos dividido em capítulos:

- **Capítulo 1:** Apresenta uma revisão bibliográfica sobre os principais temas abordados nesse trabalho como, tecnologias não térmicas aplicadas na conservação de sucos de frutas, mecanismo de ação e aplicação do ultrassom, plasma e luz pulsada, e uma breve abordagem sobre a matriz utilizada (açai).
- **Capítulo 2:** Nesta seção o objetivo foi avaliar o efeito de tecnologias como ultrassom, plasma e luz pulsada nos compostos bioativos, atividade antioxidante e atividade enzimática (polifenoloxidase e peroxidase) no suco de açai (*Euterpe oleracea*) comparado ao processamento térmico.
- **Capítulo 3:** Por fim avaliar as implicações das tecnologias não térmicas durante o armazenamento do suco de açai, com enfoque na concentração de compostos bioativos (fenólicos e antocianinas), como também na atividade antioxidante e enzimática (polifenoloxidase e peroxidase). Assim como também o efeito combinado dessas tecnologias (ultrassom e plasma) e a biodisponibilidade dos compostos bioativos (compostos fenólicos e antocianinas) pós processamento.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Tecnologias não térmicas aplicadas na conservação de sucos

O mercado de sucos de frutas vem crescendo ao longo dos anos devido ao interesse do consumidor por alimentos e bebidas mais saudáveis. O principal método de conservação desse alimento é o processamento térmico, que atua na inativação de microrganismos e enzimas aumentando sua vida útil (JAMBRAK, 2018).

Porém as altas temperaturas aplicadas nesse processamento podem resultar em alterações dos componentes dos alimentos, responsáveis por suas características sensoriais, bem como alteração do teor nutritivo dos mesmos, como a redução de compostos bioativos e sua biodisponibilidade (ALMEIDA et al., 2015; MISRA et al., 2016; RAWSON et al., 2011).

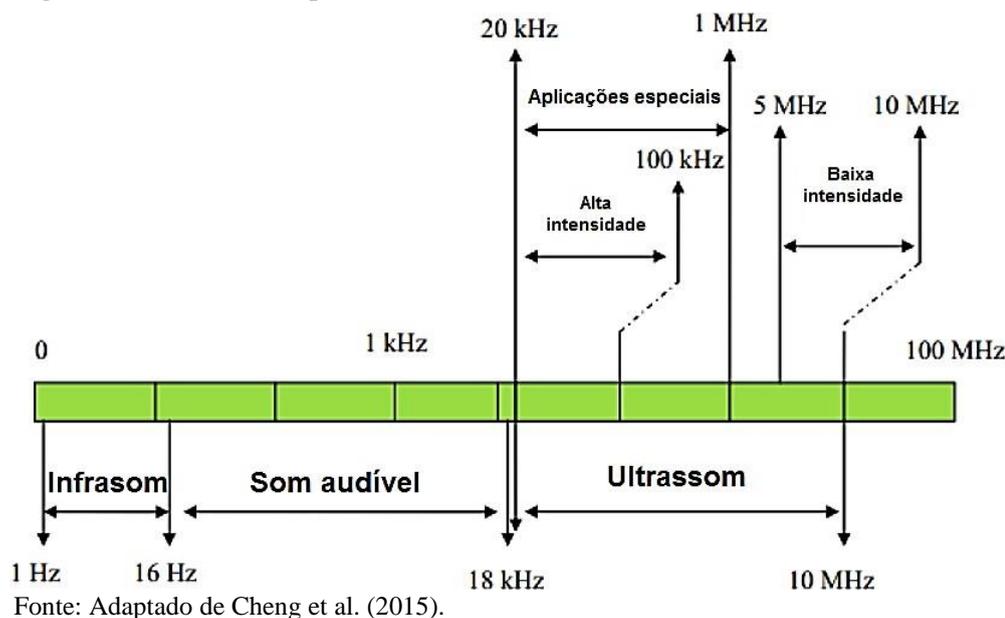
Diante das alterações causadas por esse tipo de tratamento, as tecnologias não térmicas vêm sendo propostas como uma alternativa ao tratamento térmico. O desenvolvimento de novas tecnologias, como, luz ultravioleta, alta pressão hidrostática, ozônio, ultrassom, campo elétrico pulsado, irradiação gama, luz pulsada e plasma podem garantir a segurança do produto, a retenção de compostos bioativos, assim como, a otimização de processos térmicos sequenciais a essas tecnologias (AADIL et al., 2015; PATRASA et al., 2010).

2.2 Ultrassom

O ultrassom pode ser definido como ondas sonoras com frequência acima de 20 kHz indetectáveis pelo ouvido humano. No processamento de alimentos o ultrassom é dividido em baixa intensidade e alta frequência (5 a 10 MHz), método não destrutivo de análise que fornece informações sobre as propriedades físico-químicas de alimentos como firmeza, conteúdo de óleo e sólidos solúveis totais.

O ultrassom de alta intensidade e baixa frequência (faixa de 20 a 100 kHz) (figura 1), que provoca a ruptura física de tecidos, cria emulsões, limpa equipamentos e promove reações químicas (CHENG et al., 2015; GALLO; FERRARA; NAVIGLIO, 2018; SULLIVAN et al., 2014).

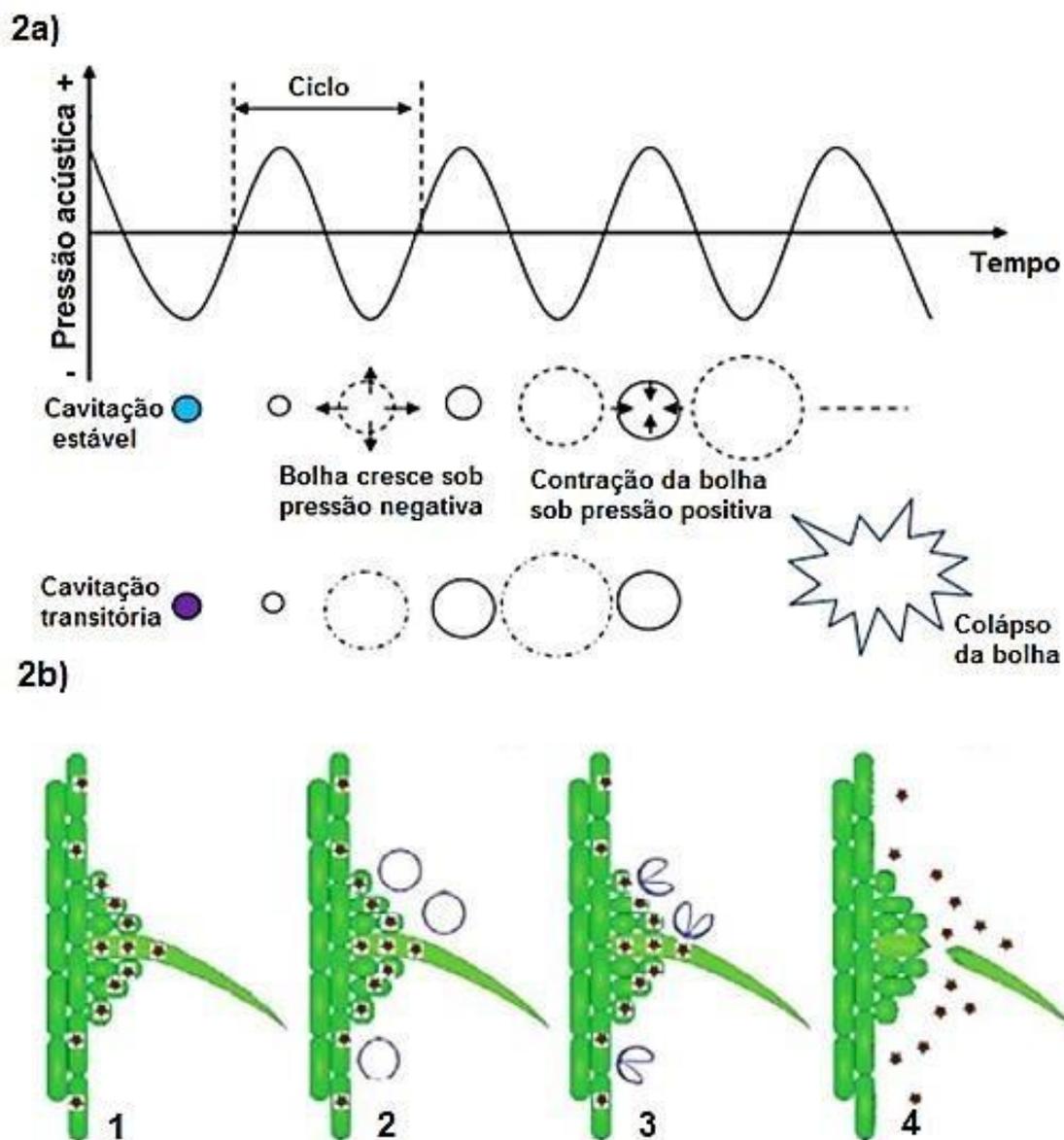
Figura 1 - Faixa de frequência das ondas sonoras



Quando as ondas ultrassônicas se propagam a uma determinada potência e frequência, os ciclos de compressão e expansão aumentam a rarefação entre as moléculas de um meio o que leva à formação de bolhas de cavitação. De acordo com a ruptura ou não da bolha de cavitação, ela pode ser classificada em cavitação estável e transitória (Figura 2a) (CHENG et al., 2015). Quando a amplitude da onda sonora aumenta a pressão negativa (expansão) acaba por gerar bolhas de cavitação. Quando a pressão atmosférica é restabelecida a bolha sofre compressão. Ciclos de compressão e expansão acontecem repetidamente até que a bolha atinge um tamanho crítico tornando-se instável e colapsa.

Durante o colapso da bolha podem ser geradas pressões e temperatura extremamente altas de até 100 Mpa e 5000K respectivamente (ZHENG, 2005). A implosão de bolhas de cavitação na superfície de uma partícula resulta em micro jato (Figura 2b) que gera vários efeitos como descamação da superfície, erosão e quebra de partículas e ainda a geração de radicais livres através da sonólise da água ($\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{H}^+ + \text{OH}^-$) que são altamente reativos e podem modificar as moléculas do meio onde se encontram (CHEMAT et al., 2017).

Figura 2 - a) Cavitação estável e transitória b) Mecanismo proposto para efeito de bolhas de cavitação na superfície da folha de boldo (1) Perfil da planta com um tricoma na superfície da folha (2) Geração de uma bolha de cavitação (3) Colapso da bolha que gera um micro jato dirigido a superfície (4) Abrasão da superfície, quebra do tricoma e liberação de material solúvel no meio



Fonte: CHEMAT et al., 2017; ZHENG, 2005.

Outros efeitos também podem ser observados no processamento de alimentos pelo uso de ultrassom de alta intensidade, como alteração de viscosidade, formação de emulsão, rompimento celular, dispersão de agregados, polimerização, desgaseificação de

alimentos líquidos, extração de enzimas e proteínas, inativação de microrganismos, corte, melhoria de congelamento e degelo, cristalização, melhoria na filtração, na pasteurização e na esterilização de matrizes alimentares (MUSIELAK; MIERZWA; KROEHNKE, 2016).

2.2.1 Aplicação de ultrassom em sucos de frutas

Os estudos realizados com ultrassom em alimentos são crescentes. Nos últimos anos a aplicação dessa tecnologia em sucos de frutas vem obtendo atenção a fim de se entender melhor suas implicações na segurança alimentar, propriedades físico-químicas e nutricionais. A manutenção da qualidade através da retenção/aumento da concentração de compostos bioativos, como compostos fenólicos, antocianinas, vitaminas e redução da atividade enzimática seria benéfica para o consumidor e também para os próprios produtores (PANIWNYK, 2017; SWAMY; MUTHUKUMARAPPAN; ASOKAPANDIAN, 2018).

Diversos estudos com ultrassom foram realizados em matrizes alimentares distintas variando frequência, potência, tempo e temperatura. Os efeitos ultrassônicos em líquidos alimentares são monitorados através da avaliação dos parâmetros físico-químicos das bebidas (CHEMAT et al., 2017; PANIWNYK, 2017). Benefícios nutricionais estão sendo citados por autores, como aumento dos níveis de antioxidantes e compostos bioativos encontrados em bebidas tratadas por ultrassom.

Além disso, um dos fatores que influencia a aceitação e a preferência do consumidor é a cor. Sabe-se que a degradação da cor em produtos à base de frutos está relacionada ao escurecimento enzimático de compostos fenólicos. As principais enzimas responsáveis por esse escurecimento são PPO (polifenoloxidase) e POD (peroxidase). Portanto, a inativação de PPO e POD é necessária para melhor retenção de cor e aumento da vida de prateleira destes produtos (CAO et al., 2018).

A Tabela 1 mostra uma breve revisão de estudos realizados com sucos de frutas tratados com ultrassom para melhoramento das qualidades nutricionais e redução da atividade enzimática da PPO e POD.

Tabela 1 - Parâmetros Ultrassônicos e seus efeitos nas propriedades e atividade enzimática de suco de frutas

Tipo de suco	Condições experimentais	Efeito do ultrassom	Referências
Morango	Frequência de 20 kHz, 400 W, 4 min (US4), 8 min (US8), 12 min (US12) e 16 min (US16)	US12 (12 min), aumento significativo no total de fenóis, flavonóides, teor de ácido ascórbico e atividade antioxidante. Microestrutura: aumento nos canais microscópicos e destruição da parede celular	JIN WANG et al., (2019)
Goiaba	Frequência:20kHz/1000W. Potência volumétrica:15 W / cm ² e 121 W / L. temperatura controlada a 25 °C. Tempo:0,3,6 e 9 min	Redução do tamanho das partículas, melhor estabilidade física do suco, evitando a sedimentação da polpa. Maior estabilidade da cor durante o armazenamento	CAMPOLI et al., (2018)
Myrica rubra	Frequência: 20 kHz/ 600 W. Intensidade ultrassônica: 90, 181, 271, 362 e 452 W / cm ² . Tempo: 1–12 min	O tratamento com ultrassom pode encurtar o tempo de inativação e aumentar a eficiência da inativação em comparação com o tratamento térmico. Além disso, a POD de myrica exibiu mais resistência ao calor e à sonicação do que o PPO	CAO et al., (2018)

Uva e cenoura	Frequência: 20 kHz/525 W. Amplitude de 70%. Pulso de 5 seg. Tempo: 5 min a 15°C	Aumento do conteúdo fenólico total e flavonoides. Aumento do tempo de sonicação: redução das propriedades antioxidantes do suco durante o armazenamento por 90 dias	NADEEM et al., (2018)
Groselha	Frequência de 42 kHz/240 W. Tempo: 10 min, 20 min e 40 min. Temperatura: 30 (± 2) ° C. Potência real dissipada: 190–210 W	Aumentos significativos nos fenóis totais, carotenoides e retinol. Reduções significativas na cromaticidade (mudanças na cor amarela)	ORDÓÑEZ-SANTOS et al., (2017)
Graviola	Frequência: 19 kHz/500 W. Potência; 20 a 100%. Tempos: 2 e 10 min	Atividade de PPO no suco foi reduzida e as mudanças de cor foram sutis. Retenção de compostos fenólicos em maior intensidade. Boa aceitação no teste sensorial	DIAS et al., (2015)
Mirtilo	Sistema contínuo de ultra-sonicação com frequência de 20 kHz. Bombeadas a uma taxa de 24 mL / min ou 93,5 mL / min. Potência: 40, 80 e 100%. Temperatura: 25°C	O processamento de sonicação de fluxo contínuo preservou as antocianinas e a cor do suco de mirtilo. Reduziu as contagens microbianas	MOHIDEEN et al., (2015)
Amora preta	Frequência: 20 kHz/ 1500 W. Temperatura: 40 e 50 ° C. Pulso: 2 e 4s	A termossonicação permitiu uma redução considerável das cargas microbianas e atividade enzimática sem afetar significativamente os parâmetros de qualidade físico-química do suco	CERVANTE-ELIZARRARÁS et al., (2017)

Os processamentos executados pela ação do ultrassom geram o aumento de compostos como fenóis, antocianinas, aminoácidos e proteínas (enzimas) através da ruptura mecânica (cavitação) de parede celular levando a uma maior liberação.

A formação de radicais livres pela sonólise da água pode atuar sobre atividade enzimática. Os radicais livres (H^+ e OH^-) reagem com os aminoácidos da estrutura da enzima mudando sua conformação e afetando posteriormente sua função catalítica. Porém a taxa de inativação das enzimas depende do fruto, cultivo, condição de tratamento como frequência, intensidade, amplitude, temperatura e tempo, pois algumas enzimas podem demonstrar resistência ao processamento (CAO et al., 2018; MARQUES SILVA; SULAIMAN, 2018; SWAMY; MUTHUKUMARAPPAN; ASOKAPANDIAN, 2018).

O ultrassom apresenta muitas aplicações na área alimentícia. Porém estudos ainda são necessários para a otimização do processo a fim de garantir um produto com segurança alimentar e com a retenção máxima de compostos bioativo, pois como apresentado na Tabela 1, os resultados são fortemente dependentes das condições de processamento e da matriz alimentar.

2.3 Plasma

O plasma é descrito na literatura como o quarto estado físico da matéria. A obtenção do plasma se dá a partir da aplicação de uma descarga elétrica a um gás (dióxido de carbono, argônio, nitrogênio, hélio, oxigênio ou ar) inicialmente neutro que gera um brilho composto de espécies químicas reativas, como, radicais livres, elétrons, íons, moléculas neutras e excitadas, luz ultravioleta, espécies reativas de oxigênio (como ozônio O_3 , oxigênio atômico O , oxigênio excitado O_2 e ânion superóxido O_2^-) e de nitrogênio (como nitrogênio atômico, nitrogênio excitado, óxido nítrico $NO\bullet$) e radiação ultravioleta (UV).

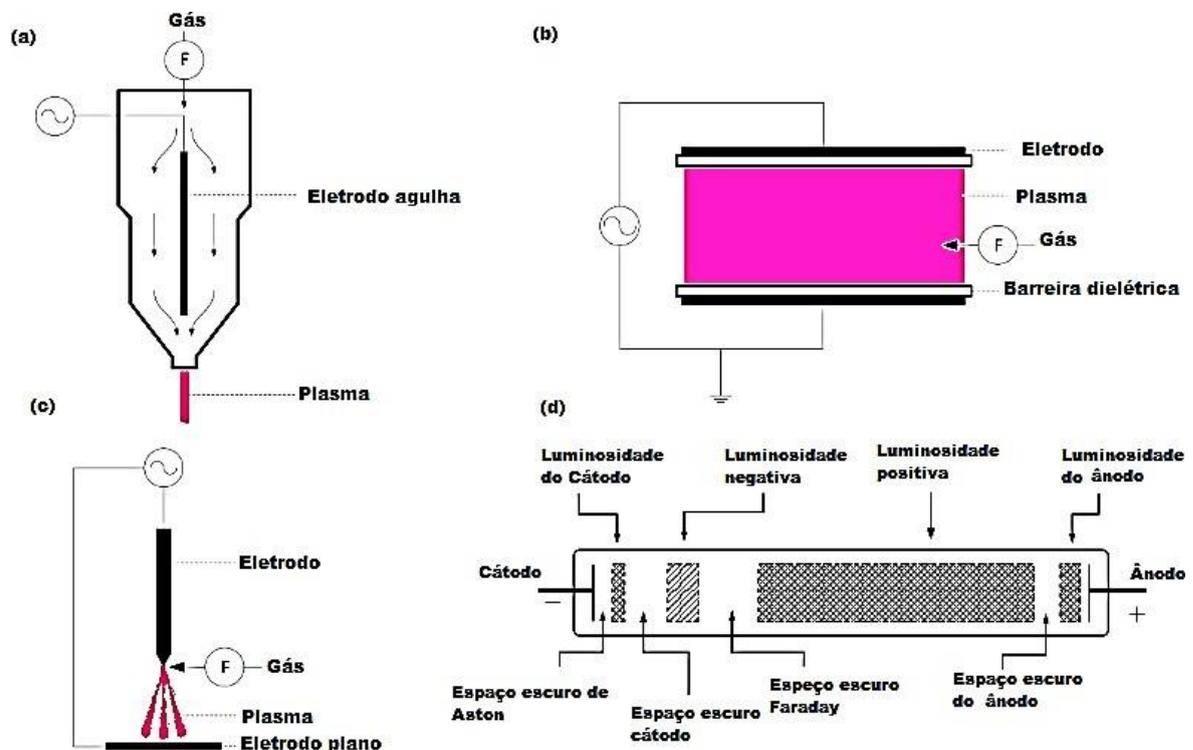
Tais espécies químicas como elétrons e fótons são consideradas como espécies leves, em contraste com os outros constituintes definidos como espécies "pesadas" que são partículas neutras e ionizadas que resultam de uma transferência energética para um gás (ALMEIDA et al., 2015; BERMÚDEZ-AGUIRRE et al., 2013; MANDAL; SINGH; PRATAP SINGH, 2018; RODRÍGUEZ et al., 2017).

A classificação do plasma baseia-se nos níveis energéticos relativos dos elétrons e das espécies geradas. Dependendo da maneira como essas espécies são ativadas e seu poder de trabalho, o plasma pode apresentar baixa ou altas temperaturas, sendo chamados de térmicos e não térmicos (FERNANDES; SANTOS; RODRIGUES, 2019; FERNÁNDEZ-GUTIERREZ et al., 2010).

O estado plasmático pode ser alcançado através da aplicação de energia em diversas formas, incluindo: campos térmicos, elétricos ou magnéticos e frequências de rádio ou micro-ondas, que aumentam a energia cinética dos elétrons, resultando em aumento do número de colisões das moléculas que formam o gás. Com base nas propriedades do plasma, este pode ser usado em vários campos como têxteis, eletrônicos, alimentos e embalagens (MANDAL; SINGH; PRATAP, 2018; THIRUMDAS; KADAM; ANNAPURE, 2017).

Plasmas não térmicos (frios), podem ser obtidos a pressões atmosféricas ou a baixa pressão (inferior a 0,1 Torr). São caracterizados pelo desequilíbrio de temperatura entre elétrons e íons, que podem ser gerados através de várias técnicas. O plasma não térmico é de interesse industrial por não exigir condições extremas. Plasmas frios podem ser gerados usando várias técnicas como, jato de plasma, descarga de barreira dielétrica (DBD), descarga corona e descarga luminosa conforme apresentado na Figura 1 (PANKAJ et al., 2016; PANKAJ; MISRA; CULLEN, 2013).

Figura 3 - Diferentes configurações de fontes de plasma: a) Jato de plasma à pressão atmosférica b) Descarga de barreira dielétrica (DBD) c) Descarga corona d) Descarga elétrica em gases mostrando as regiões dentro da descarga luminosa



Fonte: Adaptado de Farias, 2006; Surowsky; Schlüter; Knorr, 2015.

Cada tecnologia tem suas vantagens e desvantagens. A vantagem do sistema luminoso em relação aos outros sistemas é que um maior volume de amostras que pode ser tratado

(10 a 200 mL). A desvantagem é que o processamento deve ser realizado a baixas pressões (< 0.5 atm.). Já a tecnologia de jato de plasma atual tem sido aplicada apenas a pequenos volumes (0,1 a 5 ml) devido a limitações tecnológicas. Outro fator que favorece a aplicação do plasma luminoso é o controle a composição do plasma produzido, já que as configurações do sistema podem ser modificadas e assim controlar a vazão de gás (concentração de espécies reativas) e composição de gás. A possibilidade de tratamento de um maior volume e controle operacional faz com que esse método seja uma boa opção para estudar a aplicação do plasma no processamento do sucos de frutas (FERNANDES; SANTOS; RODRIGUES, 2019; HERCEG et al., 2016; RODRÍGUEZ et al., 2017).

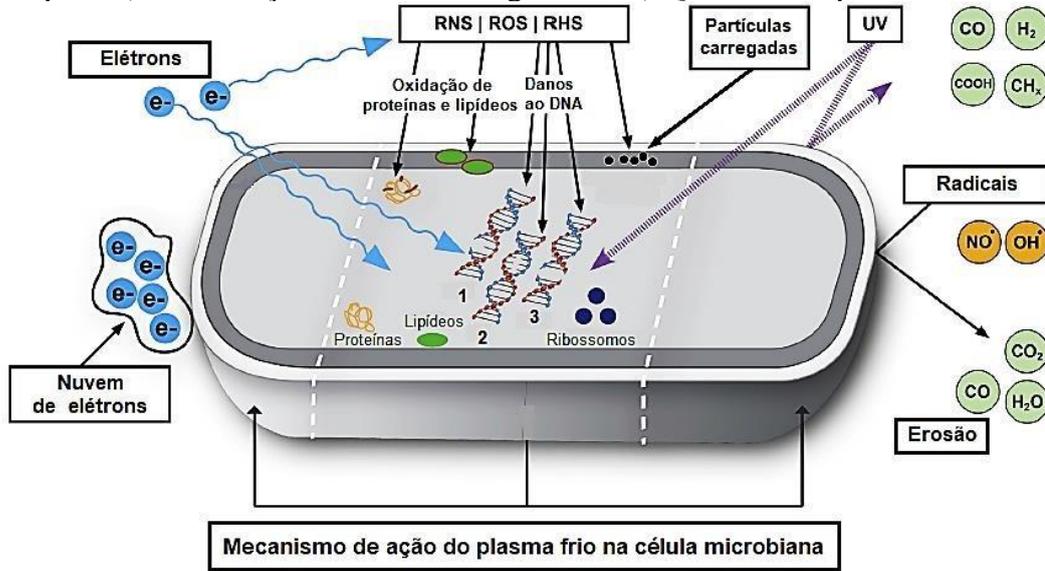
Devido à baixa pressão utilizada na aplicação do plasma é necessário que as amostras tratadas (sucos) estejam embaladas em materiais resistentes e que não interajam com o alimento quando submetidos ao plasma.

Pankaj et al., (2017) relatam que é essencial discutir os efeitos do plasma frio nos filmes poliméricos já que algumas modificações em materiais de revestimento foram encontradas, como: modificação da composição química da superfície, aumentando sua hidrofiliabilidade, mudanças nas propriedades térmicas, permeabilidade ao vapor de água. Mesmo com essas mudanças nas propriedades dos filmes de embalagens, estas foram consideradas aceitáveis para aplicações de embalagens de alimentos.

Para o tratamento com plasma em embalagem, o produto é primeiro embalado em plástico ou em vidro e selado. O gás (ar ou mistura de gases) dentro da embalagem é exposto a um campo elétrico forte por um curto período de tempo, essa exposição rompe as ligações do gás e o transforma no estado ionizado, que pode atuar na inativação microbiana e desencadear diversas reações no meio aplicado. As espécies geradas podem ter um tempo de vida que varia de minutos a horas (MISRA et al., 2019).

Na inativação microbiana o plasma atua de três formas contribuindo para a morte celular: interação das espécies reativas com a superfície celular, volatilização de compostos e destruindo o material genético através dos fótons ultravioletas. Quando ocorre o bombardeamento da superfície celular os átomos intrínsecos dos microrganismos interagem com as espécies que são absorvidos na superfície bacteriana e formam compostos gasosos (CO₂ e H₂O) que provocam lesões irreparáveis na superfície da célula, resultando em morte celular. Além disso, a membrana celular é exposta a intensos campos elétricos que podem provocar ruptura de parede (COUTINHO et al., 2018). A figura 4 mostra um breve esquema dos mecanismos de ação do plasma para inativação de microrganismos.

Figura 4 - Mecanismo de ação do plasma frio na célula microbiana. 1) Quebra da fita simples; 2) Modificação das bases nitrogenadas; 3) Quebra da dupla fita



Fonte: Adaptado de Hertwig; Meneses; Mathys, 2018.

Assim como a descontaminação microbiológica é importante para a preservação de alimentos e mostra a eficiência do processo, a conservação dos compostos bioativos e inativação de enzimas pelo processamento aplicado é de extrema importância para qualidade de sucos de frutas. É reportado na literatura a aplicação de plasma frio em sucos com bons resultados em vitamina C, carotenoides, polifenóis, flavonoides e antocianinas (MANDAL; SINGH; PRATAP, 2018; RODRÍGUEZ et al., 2017).

Fernandes et al., (2019) observaram o aumento do teor de vitamina A e de carotenoides no suco de acerola tratados com plasma luminoso (10 mL/min e 10 min). O teor de vitamina C manteve a retenção acima de 95%. A cor laranja típica do suco melhorou devido ao aumento no teor de carotenoides livres. Em condições mais severas (fluxo de gás de 20 mL/min e 15 min) o teor de fenólicos diminuiu em 30%.

Kovačević et al., (2016) avaliaram o efeito do plasma frio sobre antocianinas e cor em suco de romã. O estudo foi feito em diferentes condições de tempo (3, 5, 7 min), volume (3, 4, 5 cm³) e fluxo de gás (0,75 1,15 dm³/min). O tratamento com plasma resultou em maior conteúdo de antocianina de 21% a 35% (3 min, 5 cm³ de volume e 0,75 dm³/min) no suco de romã.

Rodríguez et al., (2017) efeito do plasma frio indireto (Fluxo:10, 30 e 50 mL/min e tempo: 5, 10 e 15 min) foi estudado nos teores de vitamina C, polifenóis, flavonoides e atividade antioxidante de suco de caju. Este tratamento promoveu incremento do teor de vitamina C, flavonóides e polifenóis e atividade antioxidante. Porém o aumento da exposição ao plasma

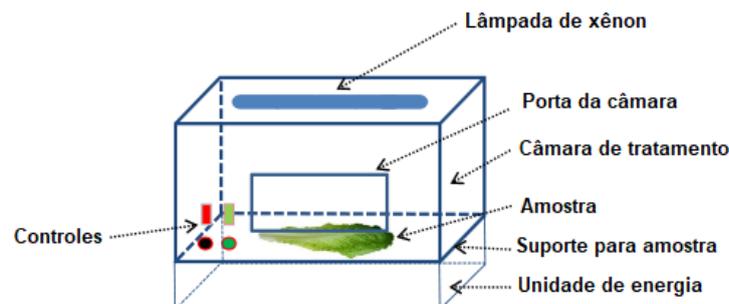
resultou em uma diminuição da maioria dos compostos bioativos. Outro aspecto importante da interação de espécies químicas do plasma com alimentos é o efeito sobre as enzimas. O tempo de exposição a essas espécies reativas pode conferir a perda de estrutura secundária devido à quebra de ligações específicas ou modificações químicas das cadeias laterais (MISRA et al., 2016). Chutia et al., (2019) relataram que a tensão e o tempo foram considerados parâmetros importantes na taxa de inativação da atividade enzimática da POD e PPO em água de coco. O sistema utilizado foi plasma atmosférico de barreira dielétrica.

A ruptura parcial/ total de membranas celulares desencadeada pelas espécies reativas explica o aumento na concentração desses compostos. Porém, reduções observadas em compostos bioativos podem ser atribuídas aos parâmetros do processamento, como o tempo de exposição. A densidade de cargas reativas também mostra influência na redução desses compostos. Contudo a otimização das condições desse processo devem ser avaliados para a aplicação em diferentes matrizes alimentares (ALVES FILHO et al., 2018; COUTINHO et al., 2018; PUTNIK et al., 2019).

2.4 Luz Pulsada

A tecnologia de luz pulsada (LP) envolve a geração de impulsos elétricos de alta potência que são posteriormente transformados em pulsos de alta potência e curta duração (1 μ s–0.1 s), um gás inerte e lâmpadas de xenônio que emitem 40% de luz UV (figura 5). A luz emitida compreende uma faixa de luz ultravioleta (100-400 nm), luz visível (400-700 nm) e luz infravermelha (200–1000 nm) (Figura 5). Essa tecnologia também é conhecida por vários outros nomes, como luz de alta intensidade, luz branca de amplo espectro, luz pulsada intensa, luz branca pulsada e luz UV pulsada (CHEN et al., 2015; JOHN; RAMASWAMY, 2018; PATARO et al., 2015a).

Figura 5 - Representação de um sistema de luz pulsada



Fonte: Adaptado de Gómez-López, 2016.

Os principais fatores que determinam a eficiência de um tratamento com luz pulsada são normalmente a matriz alimentar tratada (líquido ou sólido) o grau e a natureza da contaminação microbiana e os parâmetros do processo. Outro fator que influencia a absorção e transmissão da luz emitida é em relação à transparência ou opacidade do material, já que essa tecnologia é limitada à camada superficial do alimento tratado. Quando o material possui um baixo coeficiente de reflexão bons resultados são alcançados (HEINRICH et al., 2015).

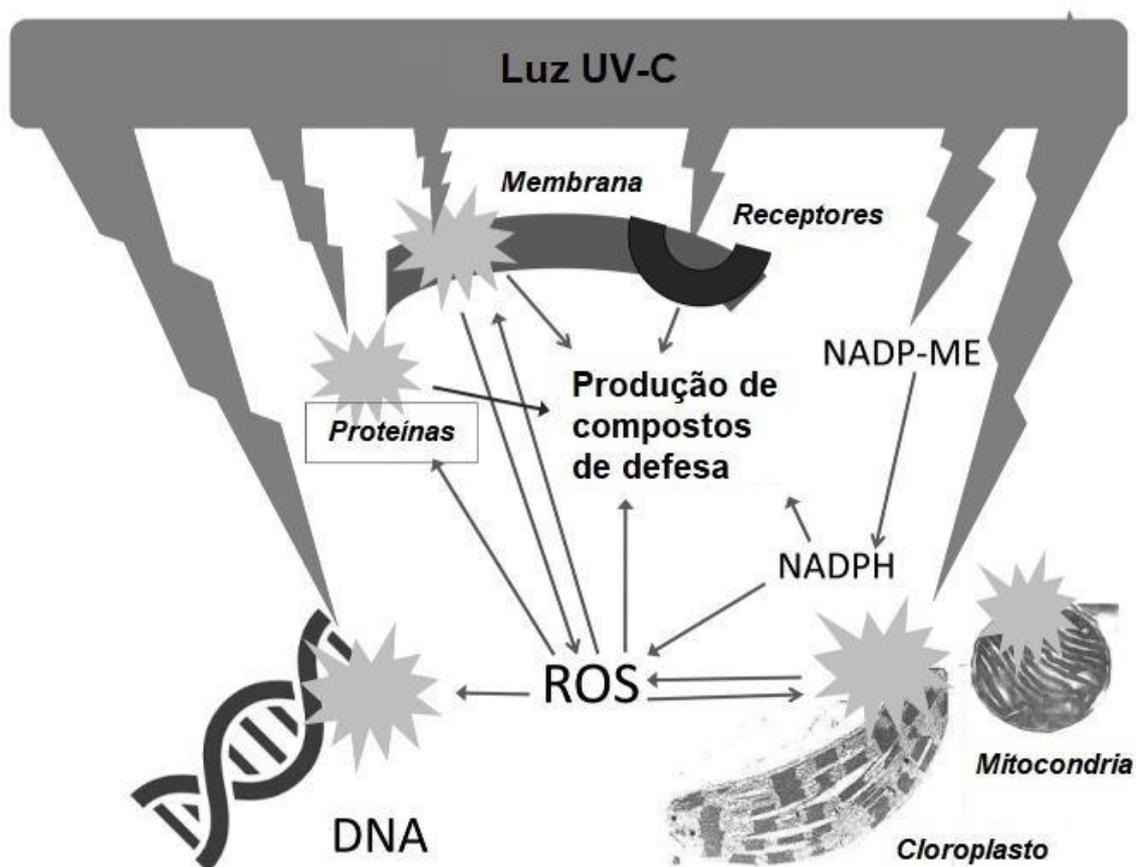
O dano causado no DNA tem sido relatado como o principal mecanismo de inativação microbiana por luz pulsada, mas a inativação por LP tem características adicionais que podem explicar sua maior eficiência, incluindo efeitos fototérmicos e físicos (CHEN et al., 2015; KOUTCHMA, 2017), os quais são elencados a seguir:

- Efeito fotoquímico: Nos microrganismos é causado pela luz UV-C que forma dímeros de timina no DNA. O dano estrutural causado pela formação desses dímeros inibe a formação de novo DNA, resultando na inativação do microrganismo.
- Efeito fototérmico: Uma grande dose da descarga é absorvida por microrganismos que aquece instantaneamente (50–1508 ° C) resultando na inativação. Além disso, esse processo de aquecimento afeta apenas a superfície dos objetos (com espessura aproximada de 10 µm), sem aumentar consideravelmente a temperatura interna dos objetos irradiados.
- Efeito Fotofísico: Dano na estrutura de células microbianas atribuído ao constante distúrbio causado pelos pulsos de alta energia resultando em lise celular, ausência de parede celular, encolhimento da membrana citoplasmática e colapso das estruturas internas.

A LP também afeta a atividade enzimática causando alterações fisiológicas observadas devido a luz UV. Um amplo espectro pode ser útil para inativar e inibir a atividade enzimática (GÓMEZ-LÓPEZ et al., 2007). Porém, alguns estudos avaliaram a inativação da PPO e POD pela luz pulsada e observaram que altas concentrações de enzimas (PPO) diminuem a inativação, esse fato foi atribuído ao efeito de aglomeração. Embora ocorra mudança de temperatura e a enzima seja afetada o mecanismo de inativação ainda pode ser considerado exclusivamente um processo fotoquímico (MANZOCCO; PANOZZO; NICOLI, 2013; PELLICER; GÓMEZ-LÓPEZ, 2017).

Outro efeito atribuído a LP em frutos vivos é a biossíntese de fitoalexinas que configura aumento da resistência à infecção por microrganismos, tais como bactérias ou fungos. A produção de espécies reativas também é observada quando o material é submetido a luz UV, sendo esse um estressor, que pode impactar negativamente o funcionamento de cloroplastos e mitocôndrias, bem como a integridade de proteínas, moléculas de DNA e membranas. Essas espécies não estão somente envolvidas em danos, mas também desempenham papéis essenciais de sinalização e estão envolvidas na regulação de muitos processos fisiológicos (modificação da parede celular, enzimas de defesa e a atividade antioxidante) (URBAN et al., 2018) (Figura 6).

Figura 6 - Representação dos efeitos da luz ultravioleta de sinalização de processos fisiológicos mediados por ROS



Fonte: Adaptado de Urban et al., 2018.

LP vem sendo intensamente investigada como uma alternativa não térmica para a inativação de microrganismos em alimentos, porém a aplicação e o efeito em sucos de frutas e

sobre os atributos de qualidade ainda são escassos (VALDIVIA-NÁJAR; MARTÍN-BELLOSO; SOLIVA-FORTUNY, 2018). Alguns fatores podem limitar a utilização dessa tecnologia em sucos como, poder de penetração da luz ultravioleta através dos líquidos (90% da luz incidente pode ser absorvida dentro da primeira camada de 1 mm de um suco de fruta), a presença de compostos orgânicos e substâncias em suspensão pode reduzir a quantidade de luz transmitida através da matriz alimentar afetando a eficiência do processo (MAFTEI et al., 2014).

Tem sido sugerido que o estresse gerado pelo PL em tecidos vegetais pode induzir mudanças no conteúdo de compostos bioativos, como no estudo de PATARO et al., (2015) que avaliaram os efeitos dos tratamentos luminosos (LP e UV-C) nas propriedades físico-químicas e antioxidantes de tomates. Foi observado que o conteúdo de licopeno, carotenoides totais, compostos fenólicos e atividade antioxidante de amostras tratadas com luz aumentou durante o armazenamento comparado com as amostras não tratadas. Valdivia-nájar et al., (2018) também verificou aumento nos teores de licopeno (até 26,1% mais) e compostos fenólicos (até 4,3% maior) em tomates minimamente processados.

A luz UV pulsada de alta intensidade foi utilizada também como pré-tratamento para secagem de manga no estudo de BRAGA et al. (2019). Foi observado que a concentração de carotenoides e vitaminas C aumentou entre 10 e 40% e a concentração de vitaminas B1, B3 e B5 aumentou 10 a 25% em mangas secas submetidas a fluências entre 3,6 e 10,8 J/cm² no pré-tratamento.

Kwaw et al., (2018) avaliou o efeito do ultrassom (28 kHz, 60 W, 15 min), luz pulsada (1,213J cm⁻² – 2 pulsos – 1, 360 μs, 3 Hz, 4 s) e seu uso combinado na concentração fenólica e atividades antioxidantes de suco de amora. Os resultados sugeriram que a aplicação de luz pulsada antes da sonicação como um processo combinado foi a técnica mais adequada no processamento mostrando o maior desempenho no nas variáveis avaliadas.

Pellicer et al., (2017) avaliaram a o uso da luz pulsada para a inativação da enzima POD em rábano. O estudo mostrou redução em mais de 95% da atividade enzimática por um processo relacionado a perda da estrutura helicoidal da enzima.

Vários benefícios são citados pelo uso dessa tecnologia como redução da carga microbiana, aumento de compostos bioativos, pré-tratamento para secagem, inativação enzimática e uso combinado com outras tecnologias. Porém mais estudos devem ser realizados para extrair o máximo de informações que essa tecnologia pode oferecer.

2.5 Açaí

O gênero *Euterpe* tem cerca de 28 espécies localizadas na região central e América do Sul e distribuída por toda a bacia amazônica. A espécie *Euterpe oleracea* Mart. (figura 7) popularmente conhecido como "açaí do-pará", é encontrada principalmente em terras baixas e em terras inundadas do estuário do rio Amazonas, nas fazendas brasileiras do Pará, Maranhão, Tocantins, Amapá e também na Guiana e Venezuela (ALEXANDRE; CUNHA; HUBINGER2, 2004; SOUSA; MELO; ALMEIDA, 1999; YAMAGUCHI et al., 2015).

Figura 7 - *Euterpe oleracea* Mart



Fonte: BUSSMANN; ZAMBRANA, 2012.

O consumo do açaí não se limita mais somente ao Norte do Brasil, atualmente ele é consumido também em outras regiões do país, além de exportado para Estados Unidos, Japão, China e muitos países da Europa (YAMAGUCHI et al., 2015). Segundo o IBGE em 2016, o valor da produção de frutos de açaí foi avaliado em R\$ 33,3 bilhões, representando um aumento de 26,0% em relação a 2015. Esse aumento pode ser devido ao valor energético e às propriedades nutricionais do açaí.

Seu fruto é considerado um “superfruto” devido ao seu valor nutricional (Tabela 2) relacionado ao elevado teor de lipídeos (ácidos graxos insaturados), proteínas, fibras, vitaminas e minerais, além da presença de compostos bioativos com propriedades antioxidantes, devido ao alto teor de compostos fenólicos, por exemplo, diferentes antocianinas, flavonas e ácidos fenólicos. As características nutricionais do açaí irão depender de fatores como, variedade, estágio de maturação e condições climáticas do local de cultivo (AUGUSTI et al., 2016; KANG et al., 2012).

As antocianinas possuem propriedades antioxidantes, anti carcinogênicas, anti-inflamatórias e anti microbianas, previnem a oxidação de proteínas de baixa densidade (LDL), doenças cardiovasculares e neurológicas (JESUS; LEITE; CRISTIANINI, 2018). No estudo de Schauss et al., (2006) foram identificadas cinco antocianinas (cianidina 3-glucosídeo, cianidina 3-rutinosídeo, cianidina 3-sambubiosídeo, peonidina 3-glu-cosídeo e peonidina 3- rutinosídeo) a partir do açaí liofilizado das quais cianidina 3-glucosídeo e cianidina 3- rutinosídeo foram as predominantes.

Tabela 2 - Composição centesimal da polpa de açaí

Determinações	mg/100 g de extrato seco
Umidade	4,92
Proteínas	8,13
Lipídeos totais	40,75
Carboidratos	52,2
Fibra dietética	44,2
Magnésio (Mg)	10,71
Sódio (Na)	28,5
Cálcio (Ca)	330
Fósforo (P)	54,5
Potássio (K)	900

Fonte: MENEZES; TORRES; SABAA SRUR, 2008; SCHAUSS et al., 2006.

Visando as propriedades nutricionais do açaí vários subprodutos são produzidos, principalmente bebidas engarrafadas, sorvetes, cremes, doces, sucos concentrados, polpas de frutas congeladas, bebidas isotônicas, polpa e óleos liofilizados para uso farmacêutico.

Durante o processo de extração da polpa é adicionado água para auxiliar a extração. Dependendo do volume de água adicionado durante a extração, as polpas são classificadas de acordo com o regulamento do Ministério da Agricultura, Pesca e Abastecimento (MAPA) em Tipo A (mais de 14% do total de sólidos) tipo B (de 11% a 14% de sólidos totais) e tipo C (entre 8% e 11% de sólidos totais) (PACHECO-PALENCIA; DUNCAN; TALCOTT, 2009; YAMAGUCHI et al., 2015).

Pesquisas são desenvolvidas na busca de métodos de padronização da qualidade do açaí. Gordon et al., (2012) caracterizaram e avaliaram as propriedades antioxidantes do açaí durante o amadurecimento. A caracterização química de frutos de açaí foi avaliada em três estágios diferentes de maturidade. Mudanças significativas foram observadas nos diferentes estágios como, redução da capacidade antioxidante com o amadurecimento, o aumento da concentração de antocianinas e alterações na composição fenólica. Todas essas alterações são esperadas, pois as mudanças nos parâmetros determinados irão configurar as mudanças no sabor e textura do açaí durante o amadurecimento.

Porém algumas alterações podem ocorrer na polpa do açaí. O tempo máximo de armazenamento da polpa de açaí *in natura* é de apenas 12 h, mesmo sob refrigeração, medidas devem ser tomadas para evitar a deterioração, já que a carga microbiana é alta. Outro fator que pode alterar as características nutricionais e visuais da polpa é a presença de enzimas endógenas como peroxidase (POD) e polifenoloxidase (PPO), que estão associadas à oxidação de compostos fenólicos e alteração da cor. Mudanças como estas podem levar a rejeição do consumidor (JESUS; LEITE; CRISTIANINI, 2018).

Nesse sentido, as tecnologias não térmicas podem oferecer condições de processamentos que mantenham a qualidade sensorial e nutricional de sucos de frutas.

3 PROCESSAMENTOS NÃO TÉRMICOS

Efeito dos processamentos não térmicos ultrassom, plasma e luz pulsada nos compostos bioativos, atividade antioxidante e enzimática de suco de açaí (*Euterpe oleracea*).

Maria de Fátima Dantas Linhares, Thatyane Vidal Fonteles, Sueli Rodrigues, Fabiano A.N Fernandes.

RESUMO

O suco de açaí foi utilizado como objeto de estudo do efeito do processamento por ultrassom, plasma e luz pulsada nos compostos fenólicos, antocianinas, atividade antioxidante e atividade das enzimas polifenoloxidase (PPO) e peroxidase (POD) em comparação ao processamento térmico. Os parâmetros envolvidos no processo foram otimizados através de planejamentos composto central (ultrassom e plasma) e univariado (luz pulsada). As variáveis dependentes avaliadas foram: compostos fenólicos totais, antocianinas, atividade antioxidante total e atividade das enzimas peroxidase e polifenoloxidase. Para os compostos fenólicos houve aumento nos sucos tratados por ultrassom (35 e 27%), plasma (241%) e processamento térmico (40%) em relação a amostra controle (suco não processado). Nas antocianinas foi verificado aumento apenas nas amostras processadas por plasma (21%) e luz pulsada (31%) comparado a amostra controle. A atividade antioxidante aumentou em todos os processamentos aplicados. Assim como foram observados aumentos dos compostos fenólicos e antocianinas. As enzimas PPO e POD do suco de açaí mostraram resistência aos tratamentos aplicados. Onde a maior desnaturação observada para POD foi no plasma (47%) e tratamento térmico (45%) e para PPO no ultrassom (10%). A maior redução da atividade enzimática encontrada foi no processamento por plasma frio. Logo, o plasma mostrou-se uma tecnologia adequada para a liberação de compostos bioativos, seguido pelo ultrassom e processamento térmico. Em relação as enzimas oxidativas, a baixa eficiência na inativação pode estar ligada a presença de isoenzimas, extração de enzimas ligadas as membranas e a alta concentração de compostos fenólicos.

Palavras-chave: Tecnologias não térmicas, açaí, compostos bioativos.

3.1 Introdução

O açaí possui características como o teor de polifenóis, antocianinas, ácidos graxos monoinsaturados e fibra que atraem a atenção dos consumidores (PALA et al., 2017). Segundo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) a procura pelo suco do açaí tem crescido cerca de 15% a cada ano. Além do mercado interno, a fruta também é consumida em outros países como Estados Unidos e Japão (BRASIL,2016).

O tipo de processamento tem grande influência na qualidade dos produtos alimentícios. A principal forma de conservação empregada nos sucos de frutas continua sendo o processamento térmico (MISRA et al., 2016). Entretanto existem questões relacionadas aos efeitos adversos do tratamento térmico, que podem comprometer a estabilidade de compostos bioativos e afetar as características sensoriais do suco (RAWSON et al., 2011).

Como alternativa a redução do calor empregado no processamento de alimentos, ondas ultrassônicas, o plasma e a luz pulsada vêm sendo estudados a fim de obter uma maior retenção e estabilidade de compostos benéficos à saúde humana (ASOKAPANDIAN; PERIASAMY; SWAMY, 2017). Tecnologias como o ultrassom podem causar uma série de efeitos devido ao fenômeno de cavitação acústica que podem levar ao rompimento das paredes celulares biológicas facilitando a liberação de conteúdo intracelular, aumentando assim a concentração de compostos bioativos no suco. Além disso, condições brandas de aplicação do ultrassom não mostram mudanças significativas nas propriedades estruturais e na funcionalidade da maioria dos compostos bioativos (FERNANDES; GALLÃO; RODRIGUES, 2009; MASON, 1996; SORIA; VILLAMIEL, 2010).

O plasma vem sendo estudado nos últimos anos para aplicação em alimentos (KEENER et al., 2018). Já existem estudos da aplicação de plasma frio na superfície de alimentos (HERCEG et al., 2016a; LACOMBE et al., 2015; TIMMONS et al., 2018) para inativação de microrganismos, porém ainda são poucos os estudos sobre o efeito dessa tecnologia nos compostos bioativos de suco de frutas (BURSAC KOVAČEVIĆ et al., 2016; FERNANDES; SANTOS; RODRIGUES, 2019; HERCEG et al., 2016; RODRÍGUEZ et al., 2017). A outra tecnologia é a luz pulsada que através do estresse gerado no tecido vegetal pode induzir mudanças no conteúdo de compostos orgânicos (AGUILÓ-AGUAYO et al., 2013; VALDIVIA-NÁJAR; MARTÍN-BELLOSO; SOLIVA-FORTUNY, 2018).

Diante dos efeitos negativos que o tratamento térmico oferece e a baixa estabilidade dos compostos bioativos, as tecnologias não térmicas vem demonstrando resultados satisfatórios para a conservação desses compostos. Contudo, o objetivo desse estudo foi avaliar o efeito de

tecnologias como ultrassom, plasma e luz pulsada nos compostos fenólicos, antocianinas, atividade antioxidante e atividade das enzimas polifenoxidase e peroxidase em comparação ao processamento térmico.

3.2 Material e métodos

3.2.1 *Preparação do suco*

O suco foi preparado a partir da polpa da fruta congelada (Petrus Fruity) diluída na proporção de 1:2 (polpa: água), conforme recomendação do fabricante.

3.2.2 *Processos não térmicos*

Os processamentos e análises foram realizados no laboratório de Biotecnologia no Departamento de Engenharia de Alimentos (DEAL) e Laboratório de Análises e Desenvolvimento de Processos do Departamento de Engenharia Química (DEQ) da Universidade Federal do Ceará. As amostras foram congeladas imediatamente após cada processamento para posterior análises.

3.2.2.1 *Ultrassom*

Amostras de 150 mL do suco de açaí foram colocados em um reator de vidro encamisado de 250 mL e processadas em um Desruptor/Sonicador Ultrassônico (Ultronique QR500) de 500 W/cm² com frequência constante de 19 kHz e macro ponta de titânio de 13 mm. A macro ponta de titânio foi submersa no suco em uma profundidade de 1,5 cm. A intensidade de energia ultrassônica dissipada pela ponta de titânio é calculada de acordo com a Equação 1 e estão apresentadas na Tabela 3 (LI; PORDESIMO; WEISS, 2004).

$$I = \frac{P}{\pi r^2} \quad (1)$$

Onde r é o raio (cm) da macro ponta de titânio e P (Watt) é a potência aplicada. A temperatura foi controlada durante todo o processamento em 23 °C.

3.2.2.2 *Plasma*

Para os testes foram utilizados 140 mL de suco para cada amostra. As amostras foram embaladas a vácuo (tipo Nylon-Poli com espessura 0.12 mm e tamanho de 20x25 cm).

O processamento foi realizado em um gerador de plasma frio de descarga luminosa modelo Venus PE-50 (ETCH, Estados Unidos) composto por um eletrodo horizontal (4,5"W x 6"D + 2,5"C), uma fonte de alimentação de 50 KHz, uma bomba de vácuo modelo 5CFM com 2 estágios diretos e uma câmara de alumínio (5,5"W x 7" D x 3,5"H). O equipamento é ainda equipado com válvulas de gás computadorizadas altamente precisas e repetíveis para o controle da taxa de fluxo do gás injetado. O sistema é totalmente automatizado e controlado pelo software Plasma Etch, Inc. fornecido pelo fabricante. O gás utilizado foi o ar sintético e os parâmetros de fluxo e tempo são apresentados na Tabela 3.

3.2.2.3 *Luz Pulsada*

No processamento por luz pulsada uma alíquota de 15 mL de suco (altura do filme de 0,5 cm) foi colocada em placa de petri de vidro aberta a uma distância de 11 cm da fonte de luz para aplicação do pulso de luz. O parâmetro de processamento avaliado foi a intensidade de luz de 0,0857 J/cm², 0,6 J/cm² e 0,9473 J/cm². Para o processamento foi utilizado o equipamento Intense Pulsed UV R&D System modelo XeMatica-2L-SA da marca SteriBeam Systems (Figura 03)

3.2.3 *Planejamento experimental*

As condições de sonicação e aplicação do plasma frio foram estudadas através de um delineamento experimental composto central (CCRD, 2²), com 3 pontos centrais para otimização das condições dos processos Tabela 3.

A intensidade de energia ultrassônica e os tempos de processamento foram de 75,34 a 373,93 W/cm² e 2 a 10 min, respectivamente. Para o plasma frio, as variáveis foram fluxos de 10 a 30 L/min e tempos de 5 a 15 min.

Para todos os tratamentos, a temperatura inicial do suco foi de 4 °C. As variáveis dependentes foram: atividade enzimática residual, concentração compostos fenólicos totais, DPPH, ABTS, FRAP e antocianinas.

Tabela 3 - Delineamento experimental para Ultrassom e Plasma

Ensaio	Ultrassom		Plasma	
	Potência (W/cm ²)	Tempo (min)	Fluxo (L/min)	Tempo (min)
1	75,34	2	10	5
2	372,93	2	10	15
3	75,34	10	30	5
4	372,93	10	30	15
5	226,02	2	20	5
6	226,02	10	20	15
7	75,34	6	10	10
8	372,93	6	30	10
9(C)	226,02	6	20	10
10(C)	226,02	6	20	10
11(C)	226,02	6	20	10

Fonte: Elaborado pela autora (2019).

3.2.4 *Processamento térmico*

Foram colocados 200 mL de amostra de suco de açaí em um Becker de 500 mL em banho-maria a 90 °C (SOLAB modelo 150/10) por 1 min e em seguida em banho de gelo para interromper a transferência de calor (ODRIOZOLA-SERRANO; SOLIVA-FORTUNY; MARTÍN-BELLOSO, 2008).

3.2.5 *Análise Estatística*

O planejamento experimental foi avaliado pelo software Statistica v. 10 (Statsoft). A análise de variância (ANOVA) e o Teste de Fisher determinaram a significância do modelo matemático com intervalo de confiança de 95%. Quando o modelo matemático não foi significativo, os resultados foram analisados pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5%. Os resultados foram expressos em média \pm desvio padrão.

3.2.6 *Análises físico-químicas*

3.2.6.1 *Compostos fenólicos totais*

A concentração de compostos fenólicos foi determinada seguindo o método de Folin-Ciocalteu (FOLIN; CIOCALTEAU, 1927) com modificações de (ALMEIDA et al., 2015). A análise foi realizada com uma mistura reacional de 10 µL da amostra de suco (1:10), 200 µL de reagente de Folin-Ciocalteu diluído 1:10. A reação foi interrompida com 100 µL de carbonato de sódio a 20% após 3 min de reação. A absorbância foi lida a 765 nm em espectrofotômetro Epoch ELISA. Uma curva padrão de ácido gálico foi feita para expressar os resultados em mg de ácido gálico/L de suco.

3.2.6.2 *Quantificação de antocianinas*

A quantificação das antocianinas foi realizada de acordo com o método diferencial de pH. Foram utilizados tampões de cloreto de potássio 0,025 M pH 1,0 e acetato de sódio 0,4 M pH 4,5 para as extrações. A absorbância foi medida a 520 e 700 nm. As antocianinas foram expressas como cianidina-3-glicosídeo. Utilizou-se um leitor de microplacas Epoch ELISA e as amostras foram lidas em triplicata. A concentração de antocianinas expressa em equivalente a cianidina-3-glicosídeo foi calculada pela Equação 2. Este método é descrito em detalhes por (LEE; DURST; WROLSTAD, 2015).

$$\text{EC cyanidin - 3 - glucoside} = \frac{A * PM * FD * 10^3}{\epsilon * L} \quad (2)$$

Onde: A é absorvância ($A_{520}-A_{700}$) pH1,0 - ($A_{520}-A_{700}$) pH4,5; PM: massa molar de PM 449,2 g/mol de cianidina-3-glucido; FD: fator de diluição; L: caminho óptico em cm; ϵ : coeficiente de extração molar $26900 \text{ Lcm}^{-1}\text{mol}^{-1}$.

3.2.6.3 Atividade antioxidante

A atividade antioxidante do suco de açaí foi determinada espectrofotometricamente utilizando os métodos DPPH, ABTS e FRAP (BENZIE; STRAIN, 1996; BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSET, 1995; RE et al., 1999). O ensaio ABTS e DPPH foi realizado com as modificações de ALMEIDA et al. (2015).

3.2.6.4 DPPH

O radical DPPH (0,06 mM, em álcool etílico) foi preparado no momento da análise. O experimento foi conduzido com a mistura reacional de 45 μL de amostra diluída (1:10) e 1800 μL do radical DPPH. A leitura da absorvância foi realizada após 30 minutos de reação a 517 nm em Espectrofotômetro Thermo Fisher Scientific (modelo Evolution 201 - USA). Uma curva padrão de trolox foi feita para expressar os resultados em μM trolox/mL de suco.

3.2.6.5 ABTS

O radical ABTS foi preparado 16 horas antes do ensaio. O radical foi diluído em álcool etílico até atingir uma absorvância de 0,700 ($\pm 0,050$) a 734 nm. Uma alíquota de 15 μL de suco de açaí (1:10) foi misturada com 1500 μL de radical ABTS $\bullet+$ e a absorvância foi medida após 6 minutos contra o branco (álcool etílico), utilizando o Espectrofotômetro Thermo Fisher Scientific (modelo Evolution 201, EUA). Trolox foi usado como o padrão antioxidante. Os resultados foram expressos em μM trolox/mL de suco.

3.2.6.6 FRAP

O método FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) baseia-se no poder antioxidante da Redução de Ferro (RUFINO et al., 2007). Soluções de cloreto férrico 20 mM, tampão acetato 300 mM pH 3,6 e TPTZ (2,4,6-Tris (2-piridil) -s-triazina 10 mM) em 40 mM HCl foram preparadas. A solução de trabalho foi preparada na proporção de 10:1:1 (tampão acetato: cloreto férrico: TPTZ). A mistura reacional consistiu em 15 μL da amostra diluída 1:10 mais 285 μL da solução de trabalho FRAP.

A absorbância foi então lida a 593 nm no espectrofotômetro Epoch ELISA após 30 min. Uma curva padrão de ácido ascórbico foi construída para expressar os resultados em mM de ácido ascórbico.

3.2.6.7 *Atividade enzimática*

Para a determinação da peroxidase (POD) e da polifenoloxidase (PPO), a extração enzimática foi realizada de acordo com a metodologia descrita por (WISSEMANN; LEE, 1980). Foram utilizados 500 µL de suco de açaí mais 500 µL de tampão fosfato de potássio (0,05 M pH 7,0) contendo 1% (p/v) de polivinilpirrolidona (PVP). A mistura foi centrifugada em centrífuga Sigma® 6K15 (10,733 g por 30 min a 4 °C). O sobrenadante foi usado como fonte de enzima. Os ensaios foram realizados com modificações de Fonteles et al., 2012.

3.2.6.8 *Polifenoloxidase (PPO)*

A determinação da atividade de polifenoloxidase foi realizada através da mistura 100 µL do extrato enzimático mais 616 µL de tampão fosfato 0,1 M pH 6,0 contendo Catecol 0,1 M. O ensaio foi incubado em banho-maria a 30 °C/30 min. Após o tempo de incubação a reação foi interrompida com adição de 266 µL de ácido perclórico 2N. Uma alíquota de 200 µL foi transferida para uma microplaca e a absorbância da amostra foi lida a 395 nm em espectrofotômetro ELISA Epoch.

3.2.6.9 *Peroxidase (POD)*

A atividade enzimática da POD foi medida usando 50 µL de extrato enzimático com 91,6 µL de tampão fosfato (sódio) - citrato (ácido cítrico) (0,1 M pH 5) contendo 1% (v/v) de guaiacol e 8,3 µL de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) 3%. A mistura foi incubada a 30 °C durante 5 min. A reação foi interrompida com a adição de 16,6 µL de Bissulfito de sódio a 30% (p/v). A leitura foi realizada em espectrofotômetro (Epoch ELISA) a 470 nm.

3.2.6.10 *Atividade residual (%)*

Para o cálculo da atividade residual foi considerado que uma unidade de atividade enzimática (1 UEA) foi definida como a quantidade de enzima que causa uma mudança de 0,001 na absorbância por minuto (FONTELES et al., 2012). As atividades residuais das enzimas PPO e POD após os tratamentos foram calculadas através da Equação 03.

$$A. R(\%) = \frac{A_t}{A_0} * 100 \quad (3)$$

Onde A_t correspondem às atividades enzimáticas das amostras tratadas com os processamentos não térmicos e A_0 amostra controle.

3.3 Resultados e discussão

3.3.1 Ultrassom

Os resultados de compostos fenólicos totais, antocianinas, DPPH, ABTS, FRAP e POD foram analisados pelo teste de Tukey ($p < 0,05$), pois de acordo com a ANOVA e o Teste de F não houve significância do modelo matemático a 95% de confiança. A atividade residual da PPO foi avaliada pela superfície de resposta, dado que o modelo matemático foi significativo a 95% de confiança.

3.3.1.1 Compostos fenólicos totais e antocianinas

A Tabela 4 mostrou um aumento significativo na concentração de compostos fenólicos do suco de açaí processado por ultrassom, principalmente nos ensaios 2 (tempo: 2 min e potência: 372,93 W/cm²) e 5 (tempo:2min e potência: 225 W/cm²) que mostrou 35% e 27% a mais na concentração em relação a amostra controle. Pode-se verificar que as potencias utilizadas são altas, entretanto os tempos de tratamento são de 2 minutos para as duas amostras. Soria et al., (2010) afirmam que as variáveis de extração (tempo, temperatura e potência) influenciam na extração de compostos bioativos como compostos fenólicos, antioxidantes e antocianinas o qual apresenta alta correlação em seus teores.

Tabela 4 - Efeito do processamento ultrassônico nos compostos antioxidantes fenólicos totais e antocianinas

Ensaio	Tempo (min)	Potência (W/cm ²)	CFT	Antocianinas
			(mg gálico/L)	ácido (mg de cianidina- 3-glucosídeo/L)
Controle	-	-	2268,05 ± 89,10 ^d	184,68 ± 3,49 ^c
1	2	75,00	2643,05 ± 29,26 ^{ab}	147,39 ± 11,95 ^{ab}
2	2	372,93	3079,16 ± 25,00 ^e	146,44 ± 6,79 ^{ab}
3	10	75,00	2729,16 ± 87,00 ^{ac}	158,91 ± 6,09 ^{bd}
4	10	372,93	2759,72 ± 89,88 ^{ac}	183,85 ± 1,85 ^{ce}
5	2	226	2881,94 ± 25,45 ^{ce}	155,91 ± 4,66 ^{abd}
6	10	226	2620,83 ± 86,60 ^{ab}	168,26 ± 4,01 ^{de}
7	6	75,00	2131,94 ± 114,96 ^d	184,41 ± 3,41 ^c
8	6	372,93	2509,72 ± 114,96 ^b	181,90 ± 1,97 ^{ce}
9	6	226	2662,50 ± 16,66 ^{ab}	180,01 ± 2,36 ^{ce}
10	6	226	2668,05 ± 75,61 ^{abc}	153,29 ± 3,25 ^{abd}
11	6	226	2690,27 ± 12,72 ^{abc}	142,21 ± 5,50 ^a

Valores: média ± desvio padrão. Valores com letras minúsculas iguais indicam que as amostras não diferem entre si pelo Teste de Tukey ($p < 0,05$).

Fonte: Elaborado pela autora (2019).

Resultados semelhantes foram encontrados por Ordóñez-Santos et al. (2017) que trataram suco de groselha com ultrassom (frequência 42 Hz/potência 190-210 W) por 40 min e obtiveram cerca de 15% a mais na concentração dos compostos fenólicos em relação a controle.

Para as antocianinas (Tabela 4) foi observado nos ensaios 4,7,8 e 9 que não houve diferença significativa em relação ao controle, mostrando que não houve degradação das antocianinas nessas amostras, porém houve redução para as demais amostras, onde a redução máxima chegou a aproximadamente 23%. Esses resultados estão de acordo com Mohideen et al., (2015) que relataram que o teor de antocianinas de suco de mirtilo tratado com ultrassom (frequência de 20 kHz/ 40, 80 ou 100% amplitude/ 25 °C) não foram significativamente diferentes em relação o controle. Medina-Meza et al., (2016) verificaram um efeito deletério de 33 e 44% no teor de antocianinas em blends de purê de framboesa e mirtilo quando processado com ultrassom (frequência 24 KHz/potência 400 W/20 min/25 °C).

A intensidade cavitacional do processamento com ultrassom gera alta temperatura local, pressão e ação mecânica que induz a formação de radicais OH (hidroxila) e H₂O₂ (peróxido de hidrogênio) através da sonólise da água levando a degradação de antocianinas (AHMAD; LANGRISH, 2012; REŽEK JAMBRAK et al., 2017). Antocianinas são altamente instáveis e podem ser degradadas e perder suas propriedades bioativas durante o processamento por causa de condições, como, pH, temperatura, luz, oxigênio e a presença de enzimas e íons metálicos (LI et al., 2017).

3.3.1.2 Atividade antioxidante

Foi observado um aumento na atividade antioxidante medida pelo método DPPH em todas as amostras tratadas com o ultrassom, porém, os maiores valores foram verificados nas amostras 2 (tempo: 2 min e potência: 372,93 W/cm²) e 10 (tempo: 6 min e potência: 266 W/cm²) (Tabela 5). Resultados similares foram encontrados na literatura para amostras tratadas com ultrassom. Bhat et al., (2011) também verificaram aumento na capacidade antioxidante pelo método DPPH em suco de limão kasturi tratado 30 min e 60 min a uma frequência 25 kHz e potência de 70% a 20°C.

A porcentagem de inibição do radical DPPH para esses tratamentos foi de 43,81% e 50,93% respectivamente.

Tabela 5 - Efeito do processamento ultrassônico nas atividades antioxidantes medida pelos ensaios DPPH, ABTS e FRAP

Ensaio	Tempo (min)	Potência (W/cm ²)	DPPH (µM Trolox/mL)	FRAP (mM de ácido ascórbico)	ABTS (µM Trolox/mL)
Controle	-	-	4764,00 ± 383,14 ^c	4,93 ± 0,01 ^d	12360,00 ± 200 ^b
1	2	75,00	6110,66 ± 179,20 ^{ab}	5,36 ± 0,05 ^c	10676,67 ± 175,59 ^{ad}
2	2	372,93	6810,66 ± 100,66 ^b	5,39 ± 0,02 ^c	9443,33 ± 28,86 ^c
3	10	75,00	6564,00 ± 216,33 ^{ab}	6,20 ± 0,01 ^e	11126,67 ± 256,58 ^a
4	10	372,93	6590,66 ± 221,20 ^a	5,67 ± 0,01 ^a	11293,33 ± 202,07 ^a
5	2	226	6117,33 ± 350,04 ^{ab}	5,83 ± 0,16 ^{ab}	11160,00 ± 304,13 ^a
6	10	226	6610,66 ± 275,92 ^a	5,36 ± 0,01 ^c	9010,00 ± 180,27 ^c
7	6	75,00	6244,00 ± 183,30 ^{ab}	4,73 ± 0,05 ^d	11143,33 ± 152,75 ^a
8	6	372,93	6577,33 ± 548,57 ^{ab}	6,33 ± 0,05 ^e	10276,67 ± 332,91 ^d
9	6	226	5870,66 ± 472,58 ^a	5,72 ± 0,06 ^{ab}	12510,00 ± 377,49 ^b
10	6	226	6617,33 ± 305,50 ^{ab}	5,91 ± 0,16 ^b	12460,00 ± 300,00 ^b
11	6	226	5857,33 ± 167,72 ^a	5,75 ± 0,03 ^{ab}	12660,00 ± 229,12 ^b

Valores: média \pm desvio padrão. Valores com letras minúsculas iguais indicam que as amostras não diferem entre si pelo Teste de Tukey ($p < 0,05$).

Fonte: Elaborado pela autora (2019).

Outro resultado semelhante foi o de Aadil et al., (2013) em toranja tratadas por 30, 60 e 90 min com frequências de 28 kHz, potência de 70% a 20 °C e obtiveram aumento cerca de 38%, 41% e 42% respectivamente na capacidade de varredura do radical DPPH. Esse aumento da capacidade antioxidante pode ser atribuído ao aumento da concentração de compostos fenólicos como resultado do rompimento da parede celular provocada pela cavitação durante a sonicação. Os compostos fenólicos são um dos principais grupos responsáveis pela atividade antioxidante em frutas e legumes (VAN ACKER et al., 1996). Os efeitos do processamento ultrassônico na concentração de compostos fenólicos do suco de açaí podem ser observados na Tabela 5.

É possível observar essa relação também no ensaio FRAP (poder antioxidante de redução de ferro) que se baseia na capacidade de compostos antioxidantes, como compostos fenólicos, de reduzir Fe (3+) para Fe 2+) (BENZIE; STRAIN, 1996).

Nota-se uma diferença significativa na amostra 8 e 3 que apresentaram acréscimo na atividade antioxidante de 36% e 25% respectivamente em relação a amostra controle. Pérez-Grijalva et al., (2018) também observaram aumento nos valores da atividade antioxidante medida pelo método FRAP em amostra de suco de amora tratados com ultrassom (20 kHz/ potência de 750W/10min/20°C). Esse aumento foi observado em tempos de tratamentos mais longos, o que também é observado nesse estudo (Tabela 5).

Os valores obtidos para a atividade antioxidante medida pelo método ABTS se mostraram inferiores, com exceção das amostras 9, 10 e 11 que mantiveram a atividade antioxidante comparada à amostra controle. Oliveira et al., (2018) observaram redução da atividade antioxidante medida pelo método ABTS em suco de açaí tratados só com ultrassom ou ultrassom e ozônio. O suco tratado com intensidades ultrassônicas de 350 J/mL⁻¹ e 700 J/mL⁻¹ mostraram redução de 14,34% e 16,69% respectivamente na atividade antioxidante. O aumento na densidade de energia do ultrassom (700 J/mL⁻¹) e na concentração de gás ozônio (5min) no tratamento também mostrou uma redução significativa (39%) da atividade antioxidante. O mesmo foi observado nesse estudo (ensaios 2 e 6).

Os valores obtidos para determinar a atividade antioxidante pelo método DPPH em geral são mais baixos do que os valores obtidos pelo método ABTS devido uma maior estabilidade (menor reatividade) do radical DPPH que é provavelmente mais seletivo que o ABTS + em reação aos doadores de hidrogênio (MAREČEK et al., 2017; ROGINSKY; LISSI, 2005). Essa seletividade do DPPH está relacionado a sua estrutura eletricamente neutra, enquanto

o ABTS⁺ tem carga positiva e pode facilitar a reação com substâncias que possuem afinidade elétrica pelo radical. Outro fator é a posição do elétron não pareado, no ABTS⁺ está localizado nas extremidades da molécula facilitando a ligação, enquanto que no DPPH• está no centro da molécula, que é mais difícil para moléculas com estruturas químicas maiores reagir (SPAGNOL et al., 2019). Além disso, o ABTS é solúvel tanto em água e solventes orgânicos podendo, por tanto ser usado para determinar compostos antioxidantes hidrofílicos e/ou hidrofóbicos (CASSANI et al., 2018).

Quanto ao método FRAP, este possui o potencial redox comparável ao do ABTS, pois compostos semelhantes reagem nos ensaios TEAC (Capacidade *Antioxidante* Equivalente Trolox) e FRAP. As condições de reação diferem no pH. O TEAC é realizado em pH neutro e o ensaio FRAP é realizado em pH ácido (3,6) para manter a solubilidade do ferro. Assim, TEAC e FRAP podem fornecer valores relativos comparáveis, mas os valores de FRAP são geralmente inferiores aos valores de TEAC para uma determinada série de compostos antioxidantes (PRIOR; WU; SCHAICH, 2005).

3.3.1.3 Enzimas

Polifenoloxidase (PPO) e peroxidase (POD) são as principais enzimas envolvidas no processo de escurecimento. A PPO catalisa reações com compostos fenólicos que produzem pigmentos marrons indesejáveis na presença de oxigênio. Além disso, os produtos oxidativos de fenólicos por PPO podem acelerar a degradação de antocianinas, perda de cor e redução da atividade antioxidante (CAO et al., 2018).

Para a atividade enzimática da POD não houve diferença significativa entre as amostras comparadas com o controle ($2739,33 \pm 139,57$ UAE/min) como 100% de atividade. Os resultados obtidos para a polifenoloxidase foram avaliados pela superfície de resposta, dado que o modelo matemático foi significativo a 95% de confiança.

A atividade enzimática da amostra controle foi de $139,889 \pm 7,04$ UAE/min. O diagrama de Pareto (Figura 8) mostrou que o tempo linear e quadrático exerceram efeito significativo para a variável dependente (atividade residual). Ou seja, para tempos lineares houve uma maior redução da atividade residual da polifenoloxidase enquanto, os efeitos quadráticos do tempo foram negativos aumentando a atividade residual.

Tabela 6 - Resultado da influência do tratamento ultrassônico sobre a atividade enzimática (PPO e POD) do suco de açaí

Ensaio	Tempo (min)	Potência (W/cm ²)	ΔT (°C) (T _{final} 35°C - T _{inc} 23°C)	Atividade Residual %	
				PPO	POD
1	2	75,00	1	77,59 ± 4,62	95,26 ± 5,99 ^{ab}
2	2	372,93	2	68,93 ± 4,96	100,31 ± 5,78 ^{ab}
3	10	75,00	1	112,05 ± 6,55	98,92 ± 5,41 ^{ab}
4	10	372,93	12	83,28 ± 6,48	107,47 ± 8,36 ^b
5	2	226	2	61,22 ± 4,73	106,00 ± 6,46 ^{ab}
6	10	226	10	123,03 ± 5,08	99,28 ± 4,04 ^{ab}
7	6	75,00	0	112,75 ± 6,02	90,56 ± 1,03 ^a
8	6	372,93	8	115,29 ± 6,75	101,22 ± 5,18 ^{ab}
9	6	226	7	106,12 ± 4,94	101,92 ± 3,84 ^{ab}
10	6	226	8	124,43 ± 6,33	106,03 ± 5,11 ^{ab}
11	6	226	7	120,14 ± 5,14	106,41 ± 7,50 ^{ab}

Valores: média ± desvio padrão. Valores com letras minúsculas iguais indicam que as amostras não diferem entre si pelo Teste de Tukey ($p < 0,05$). ΔT: Variação de temperatura durante o processamento.

Fonte: Elaborado pela autora (2019).

O modelo de regressão obtido para prever a atividade residual da polifenoloxidase em função das variáveis independentes encontra-se representado na Equação 4.

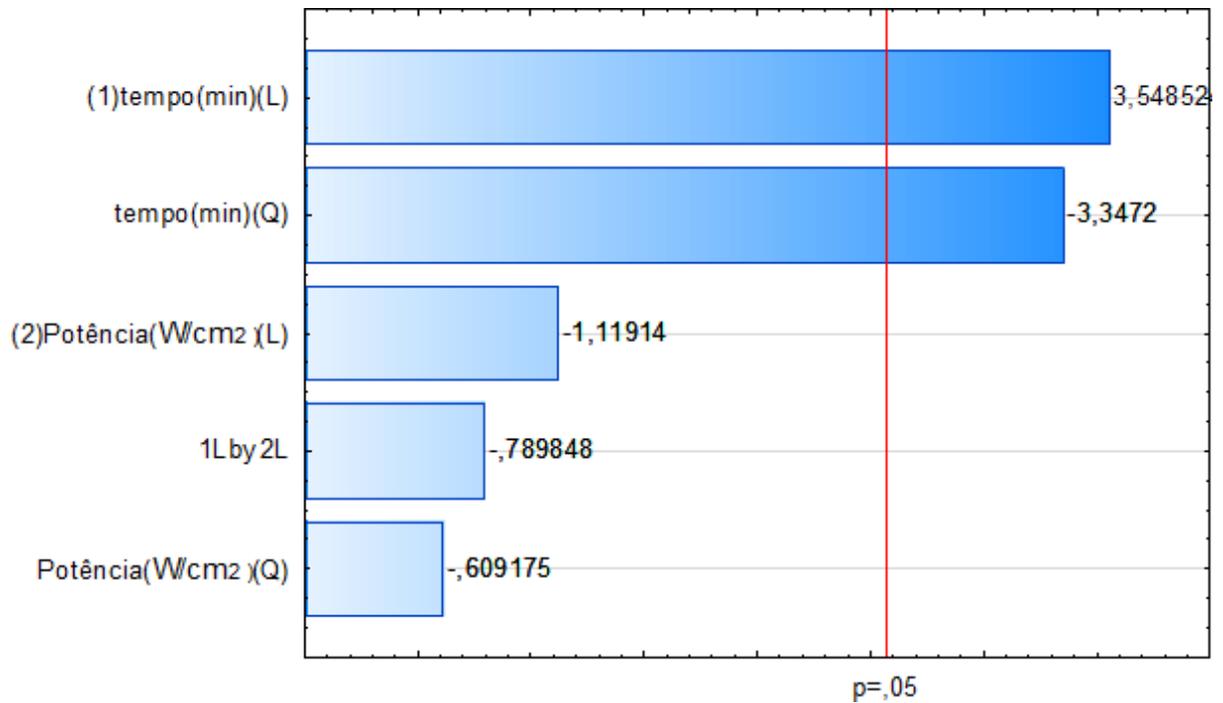
$$A.R\%_{PPO} = 16.27 + 26.56 * x - 1.67 * x^2 + 0.40 * y - 0.003 * y^2 - 0.03 * xy \quad (4)$$

Onde: A.R%_{PPO} = Atividade residual da PPO;

x = Tempo (min);

y = Potência (W/cm²).

Figura 8 - Diagrama de Pareto para o efeito do processamento de ultrassom sobre a atividade residual da enzima polifenoloxidase



Fonte: Elaborado pela autora (2019).

A análise de variância (ANOVA) para o modelo de regressão obtido é apresentada na Tabela 7. De acordo com a tabela de ANOVA, o valor de F calculado foi superior ao F tabelado (5,05) no intervalo de 95% de confiança, assim o modelo pode ser considerado estatisticamente significativo para atividade enzimática da PPO de acordo com o teste F.

Tabela 7 - Análise de variância para atividade residual de polifenoloxidase (PPO)

Fonte de Variação	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	Valor de F
Regressão	4551,17	5	910,23	5,6
Resíduo	809,81	5	161,96	
Total	5360,99	10		
Coeficiente de Determinação	0,84			

Fonte: Elaborado pela autora (2019).

Através do gráfico de superfície de resposta (Figura 2) é possível observar um aumento na atividade da polifenoloxidase (PPO) para tempos de processamento superiores a 6 min e uma redução da atividade no ensaio 5 (38,7%). O gráfico de superfície de resposta nos mostra uma região a ser evitada no processamento que são potências de 266 W/cm^2 por tempos prolongados. Esse efeito do tempo na sonicação é visto no gráfico de Pareto (Figura 4), onde o tempo quadrático mostrou uma resposta negativa, ou seja, quando o maior tempo de processamento foi aplicado houve aumento a atividade residual da enzima.

No gráfico de superfície de resposta (Figura 9) é possível observar um aumento máximo na atividade da polifenoloxidase (PPO) para tempos de processamento de 6 min e a redução máxima da atividade no ensaio 5 (38,7%) Tabela 05. O gráfico de superfície de resposta mostra uma região crítica para a máxima atividade residual no processamento que são potências de 226 W/cm^2 durante 6 min (condições encontradas através da determinação do ponto crítico, derivada igual a zero, da Equação (1).

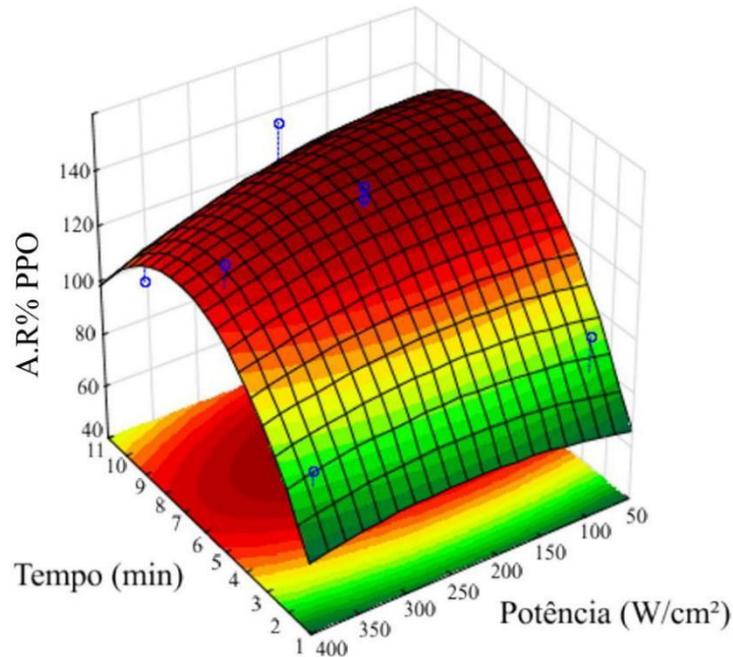
É relatado na literatura que intensidades ultrassônicas mais baixas com tempos prolongados tendem a aumentar o rompimento das paredes celulares devido à cavitação, como resultado de rápidas mudanças nas pressões do líquido, facilitando assim, a liberação de seu conteúdo e colocando em contato enzimas livres com substrato, como, compostos fenólicos (ESCARPA; GONZÁLEZ, 2001; O'DONNELL et al., 2010). Mason et al., (1996) afirma que o poder ultrassônico pode aumentar a atividade de enzimas, porém se a intensidade for muito alta, as enzimas podem ser desnaturadas.

Jesus et al., (2018) observaram um aumento na atividade da PPO em polpa de açaí tratado com alta pressão hidrostática (500 MPa/5 min, 600 MPa/5 min, 400 MPa/15 min e 600 MPa/15 min, a 25°C) e processamento térmico (85°C /1 min).

A POD mostrou termoresistência e baroresistência em ambas as condições do processo, mesmo com a combinação de alta pressão e temperatura.

Cao et. al., (2018) observaram termoresistência para PPO em suco de bayberry (*Myrica cerifera*) tratados com ultrassom (20 kHz/600 W/20%, 40%, 60%, 80% e 100%/tempo de 1-12 min) e ultrassom com controle de temperatura (banho de gelo). Os resultados mostraram que foi necessário um maior poder ultrassônico para inativar a PPO a baixa temperatura. Para a POD a atividade residual se mostrou menor nas amostras tratadas com maior intensidade no ultrassom sem controle de temperatura.

Figura 9 - Gráfico de superfície de resposta para o efeito do processamento por ultrassom sobre atividade residual do suco de açaí



Fonte: Elaborado pela autora (2019).

Terefe et al., (2010) analisaram a estabilidade de PPO e POD em relação a altas pressões (100 a 690 MPa) combinadas com variação de temperaturas (24 a 90 °C) em purê de morango. O máximo de inativação para a PPO só foi observado depois de condições mais intensas (690 MPa, 90 °C). Ao contrário da PPO a POD se mostrou mais sensível as condições dos tratamentos tendo sua inativação quase completa após 5 min de tratamento a 90 °C, independente da condição de pressão. É observado em todos estes estudos que foi necessário a combinação de calor com processamentos não térmicos para haver uma maior inativação das enzimas estudadas, porém, a associação desses processos proporcionou a utilização de temperaturas menores do que as convencionais de tratamento térmico.

Enzimas endógenas como a PPO e POD são geralmente inativados por tratamentos térmicos, que exigem uma grande quantidade de energia. É relatado na literatura que o ultrassom sozinho com temperaturas inferiores a 50 °C não é eficaz na inativação destas enzimas (BUTZ; TAUSCHER, 2002; TIWARI et al., 2009). Um efeito combinado entre calor e os danos mecânicos (despolimerização, mudança na conformação de estrutura terciária) causados pelo ultrassom podem inativá-las (AADIL et al., 2015; ANAYA-ESPARZA et al., 2017).

3.3.2 Plasma

Os resultados de compostos fenólicos totais, antocianinas, ABTS, FRAP e PPO foram analisados pelo teste de Tukey ($p < 0,05$), pois de acordo com a ANOVA e o Teste de F não houve significância do modelo matemático a 95% de confiança. A atividade residual da POD foi avaliada pela superfície de resposta, dado que o modelo matemático foi significativo a 95% de confiança.

3.3.2.1 Compostos fenólicos totais e antocianinas

Os resultados de compostos fenólicos totais e antocianinas após os tratamentos por plasma frio estão apresentados na Tabela 6. Foi observado um aumento dos compostos fenólicos totais em todos os ensaios, porém o ensaio 6 (tempo 15 min e fluxo de 20L/min) (Tabela 6) apresentou aumento superior a 100% na concentração de fenólicos. Para as antocianinas verificou-se uma baixa redução nas amostras processadas em relação a amostra controle, onde o máximo reduzido foi de 12%, com exceção do ensaio 6 que aumentou 21% na concentração.

Rodríguez et al., (2017) também observaram incremento superior a 100% de compostos fenólicos em suco de caju processado por plasma frio (gás: N_2 /15 min/50 mL/min). Herceg et al., (2016) relataram concentrações aumentadas dos compostos fenólicos (ácido elágico, ácido clorogênico, ácido ferúlico, catequina e punicalagina) em suco de romã tratados com plasma frio. Sarangapani et al., (2017) além de observarem aumento dos compostos fenólicos totais de mirtilo após 1 min de tratamento, também observaram redução significativa das antocianinas com tratamentos prolongados (80 kV/5 min) com plasma frio no nível de voltagem mais alto.

Tabela 8 - Efeito do processamento por plasma frio nos compostos antioxidantes: fenólicos totais e antocianinas

Ensaio	Tempo (min)	Fluxo (L/min)	CFT			Antocianinas	
			(mg gálico/L)	ácido %	%	(mg cianidina-3-glucosídeo/L)	%
Controle	-	-	405,20±25,25 ^e	-	-	122,99±2,52 ^b	-
1	5	10	690,62±48,81 ^d	70,43		107,98±2,72 ^a	-12,21*
2	15	10	609,37±66,14 ^{acd}	50,29		113,01±2,76 ^{ab}	-8,11*
3	5	30	580,20±29,53 ^{abcd}	43,20		117,56±3,94 ^{ab}	-4,41*
4	15	30	598,95±37,67 ^{acd}	47,58		113,68±4,05 ^{ab}	-7,56*
5	5	20	636,45±47,73 ^{cd}	56,95		112,92±5,61 ^{ab}	-8,18*
6	15	20	1384,37±43,75 ^g	241,65		149,17±9,95 ^c	21,28
7	10	10	846,87 ±61,55 ^f	108,78		108,16±1,44 ^a	-12,05*
8	10	30	546,87±33,07 ^{abc}	34,96		115,55±0,81 ^{ab}	-6,04*
9	10	20	467,70±18,04 ^{be}	15,42		113,41±2,72 ^{ab}	-7,78*
10	10	20	492,70±26,02 ^{abe}	21,59		110,25±2,57 ^a	-10,35*
11	10	20	496,87±27,24 ^{abe}	22,62		113,01±2,24 ^{ab}	-8,11*

Valores são média ± desvio. Valores com letras minúsculas iguais indicam que as amostras não diferem entre si pelo Teste de Tukey ($p < 0,05$). *Valores negativos representam redução na concentração do composto.

Fonte: Elaborado pela autora (2019).

Na geração de plasma frio são criadas espécies quimicamente reativas que possuem energia elétrica suficiente para causar a peroxidação de lipídios, induzir reações químicas e aumentar a degradação da membrana proporcionando um aumento da taxa de transferência de massa o que pode explicar o aumento na concentração de fenólicos do suco de açaí pós tratamento com plasma frio (HERCEG et al., 2016b; RAMAZZINA et al., 2015).

As antocianinas são flavonóides fenólicos localizados no vacúolo celular e com a ruptura parcial ou total ocorre a liberação de substâncias intracelulares em ambientes extracelulares (BURSAC KOVAČEVIĆ et al., 2016a). É possível observar na Tabela 9 que o ensaio 6 (tempo 15 min e fluxo de 20L/ min) mostrou ser o melhor parâmetro para a extração de compostos bioativos como compostos fenólicos e antocianinas.

Alguns autores relatam degradação de antocianinas com o processamento térmico (MERCALI et al., 2013; PACHECO-PALENCIA; DUNCAN; TALCOTT, 2009; YOU et al., 2018). A estabilidade das antocianinas não está associada somente a temperaturas altas, mas também as propriedades intrínsecas da matriz alimentar e as características do processo. Diante do exposto, as tecnologias não térmicas como o plasma podem ser uma alternativa na conservação de compostos bioativos como fenólicos e antocianinas.

3.3.2.2 Atividade antioxidante

Tabela 9 - Efeito do processamento plasma frio nas atividades antioxidantes medida pelos ensaios DPPH, ABTS e FRAP

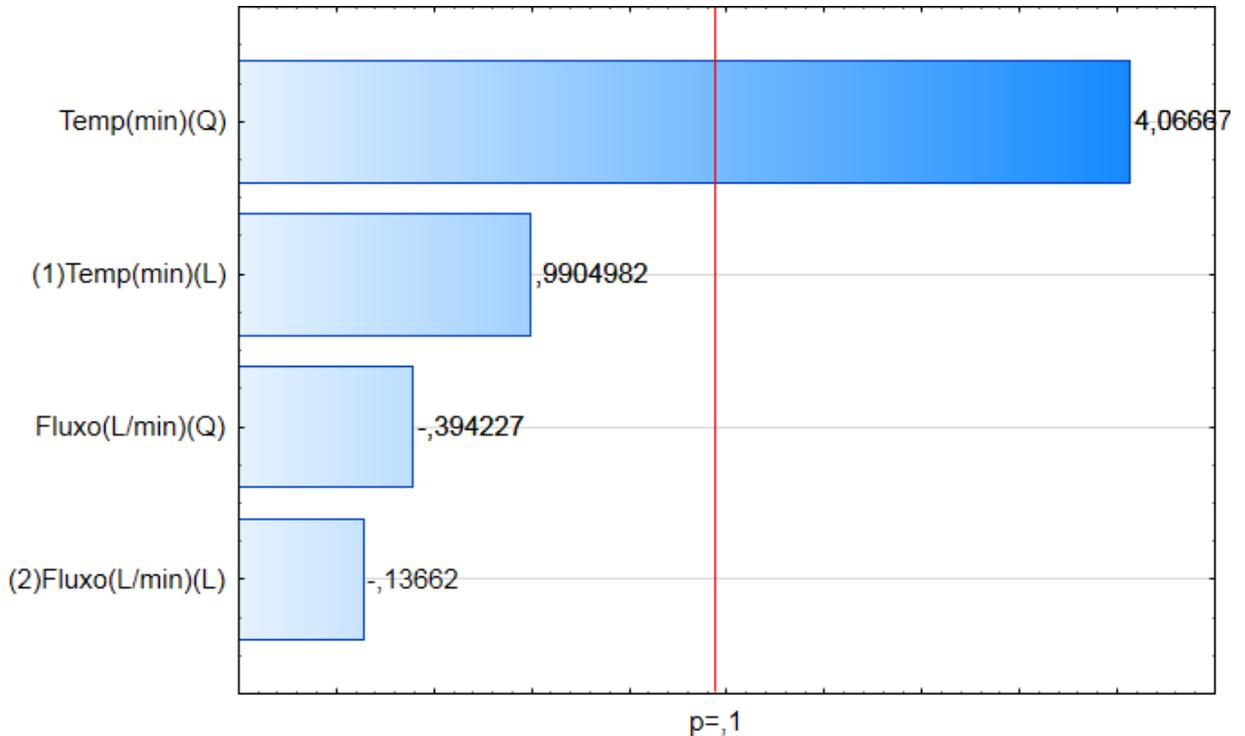
Ensaio	Tempo (min)	Fluxo (L//min)	DPPH ($\mu\text{M Trolox/mL}$)	ABTS ($\mu\text{M Trolox/mL}$)	FRAP (mM de ácido ascórbico)
Controle	-	-	2395,00 \pm 152,06	13543,33 \pm 301,38 ^{ab}	6,56 \pm 0,06 ^a
1	5	10	2703,33 \pm 166,45	8260,00 \pm 200,00 ^c	4,99 \pm 0,08 ^c
2	15	10	3153,33 \pm 162,66	8343,33 \pm 381,88 ^c	5,68 \pm 0,11 ^d
3	5	30	2320 \pm 139,19	13126,67 \pm 550,75 ^{abc}	7,56 \pm 0,12 ^f
4	15	30	3120 \pm 50,00	8760 \pm 626,49 ^c	5,50 \pm 0,07 ^b
5	5	20	3503,33 \pm 280,99	12076,67 \pm 275,3785 ^{df}	5,47 \pm 0,04 ^b
6	15	20	3220 \pm 139,19	14043,33 \pm 202,07 ^{ae}	8,12 \pm 0,08 ^g
7	10	10	2103,33 \pm 137,68	13343,33 \pm 700,59 ^{ab}	5,87 \pm 0,03 ^e
8	10	30	2386,66 \pm 152,75	11143,33 \pm 464,57 ^f	5,55 \pm 0,02 ^b
9	10	20	2036,66 \pm 125,83	12760,00 \pm 360,55 ^{bd}	6,64 \pm 0,02 ^a
10	10	20	961,66 \pm 14,43	14043,33 \pm 275,37 ^{ae}	6,64 \pm 0,04 ^a
11	10	20	1720 \pm 75,00 ^d	15226,67 \pm 301,38 ^e	6,49 \pm 0,04 ^a

Valores são média \pm desvio. Valores com letras minúsculas iguais indicam que as amostras não diferem entre si pelo Teste de Tukey ($p < 0,05$).

Fonte: Elaborado pela autora (2019).

O gráfico de Pareto (Figura 10) mostra os efeitos das variáveis independentes nas respostas estudadas. Observou-se que o tempo quadrático exerceu efeito significativo positivo para a variável resposta (DPPH), onde a aplicação do plasma por tempo mais prolongado (15 min) resultou em um maior poder antioxidante para o suco de açaí expresso em $\mu\text{M Trolox/mL}$.

Figura 10 - Diagrama de Pareto para o efeito do processamento de plasma frio sobre a atividade antioxidante pelo método DPPH



Fonte: Elaborado pela autora (2019).

O modelo de regressão obtido para prever a atividade antioxidante pelo método DPPH em função das variáveis independentes encontra-se representado na Equação 5. O valor de F calculado 4,51 para a Eq. (5) foi maior que o valor F tabelado 3,18 e o coeficientes de correlação $R^2 = 0,75$.

$$\text{DPPH} = 5450,55 - 782,16 \cdot x + 40,71 \cdot x^2 + 37,25 \cdot y - 0,98 \cdot y^2 \quad (5)$$

Onde: DPPH = Concentração do radical DPPH;

x= Tempo (min);

y = Potência (W/cm^2).

De acordo com a tabela de ANOVA, o valor de F calculado foi superior ao F tabelado (3,18) no intervalo de 90% de confiança, assim o modelo pode ser considerado estatisticamente significativo para atividade antioxidante estabelecida pelo DPPH de acordo com o teste F. A análise de variância (ANOVA) para o modelo de regressão obtido é apresentada na Tabela 10.

Tabela 10 - Análise de variância para atividade residual de peroxidase (POD)

Fonte de Variação	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	Valor de F
Regressão	2865,38	4	716,34	4,51
Resíduo	952459	6	158743,09	
Total	3817841	10		
Coeficiente de determinação	0,75			

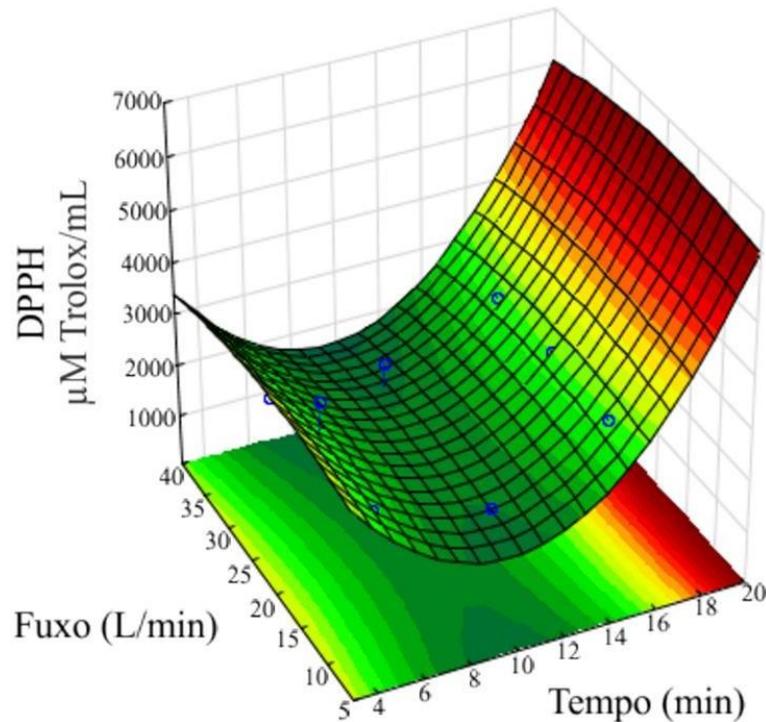
Fonte: Elaborado pela autora (2019).

A Figura 11, superfície de resposta, mostrou uma tendência ao aumento da atividade antioxidante pelo método DPPH quando a amostra foi submetida ao aumento do tempo de exposição (15 min) independente do fluxo aplicado.

Esse comportamento pode ser associado aos compostos fenólicos e antocianinas, Van Acker et al., (1996) afirmam que os compostos fenólicos são um dos principais grupos responsáveis pela atividade antioxidante em frutas e legumes. Quando o suco foi submetido a taxas de fluxo 20 L/min por 15 min houve o aumento desses compostos (Tabela 11). O mesmo pode ser observado para o FRAP que apresentou aumento de 23% na atividade antioxidante e o ABTS um acréscimo de 3% em relação às amostras controle (Tabela 11).

Rodríguez et al., (2017) observaram aumento da atividade antioxidante (DPPH, ABTS e FRAP) em suco de caju tratado com plasma frio indireto (10, 30 e 50 mL/min) por tempos de 5, 10 e 15 min. Para esses três métodos de determinação foi observado um aumento rápido nos primeiros 5 min a uma taxa de fluxo de 10 mL/min. Neste trabalho o comportamento da atividade antioxidante se assemelha ao comportamento observado para vitamina C, que pode ser o fator que determina a atividade antioxidante a esta taxa de fluxo.

Figura 11 - Gráfico de superfície de resposta para atividade antioxidante DPPH após processamento por plasma frio do suco de açaí



Fonte: Elaborado pela autora (2019).

Paixão et al., (2019) relataram aumento (50-60%) da atividade antioxidante (DPPH) quando os primeiros 10 min a uma taxa de fluxo de gás entre 10 e 20 mL/min foram aplicados. Valores semelhantes são observados nesse estudo, onde o ensaio 5 (5min – 20 L/min) obteve um aumento na atividade antioxidante de até 46%. Muitos estudos relatam não haver efeito significativo na atividade antioxidante ou redução da atividade antioxidante em outras matrizes alimentares (ALMEIDA et al., 2015; FERNANDES; SANTOS; RODRIGUES, 2018; PASQUALI et al., 2016; RAMAZZINA et al., 2015). Esses resultados divergem dos valores encontrados para o suco de açaí que apresentou aumento de até 34% da atividade antioxidante determinada pelo método DPPH.

3.3.2.3 Enzimas

Foram avaliadas as atividades das enzimas polifenoloxidase (PPO) e Peroxidase (POD) no suco de açaí processado por plasma. Os resultados obtidos estão representados na Tabela 11. O teste de Tukey foi utilizado para analisar os resultados da polifenoloxidase, pois a análise de variância e o Teste de Fisher mostraram que o modelo matemático não foi significativo a 90% de confiança.

A máxima inativação para polifenoloxidase foi observada no ensaio 9 (10 min-20 L/min) que apresentou atividade residual de 90,21%. Os valores obtidos para atividade residual nesse trabalho são maiores do que os valores encontrados por Tappi et al., (2017) que tratou maçãs minimamente processadas de diferentes cultivares por plasma frio. Os valores encontrados para atividade residual da PPO foi de 50 e 10% para a maçã Fuji após respectivamente 30 min e 60 min de tratamento.

A enzima PPO encontra-se nas células vegetais na sua forma latente e é ativada quando entra em contato com o seu substrato fenólico, e promove as reações de oxidação características. A inativação observada no ensaio 9 pode ter sido ocasionada por mudanças na estrutura da enzima. Estudos sugerem que a redução simultânea da estrutura α -hélice e aumento do conteúdo da folha- α são possíveis mecanismos de inativação para PPO e POD. Tais mudanças na estrutura podem ser desencadeadas por espécies reativas, fótons UV e os óxidos de nitrogênio (MISRA et al., 2016b; SUROWSKY et al., 2013).

Tabela 11 - Atividades residuais das enzimas polifenoloxidase (PPO) e peroxidase (POD) de suco de açaí processados por plasma frio

Ensaio	Tempo (min)	Fluxo (L//min)	Atividade Residual %	
			PPO	POD
1	5	10	97,45 \pm 2,56 ^{ad}	84,63 \pm 6,63
2	15	10	102,59 \pm 0,82 ^b	89,38 \pm 0,85
3	5	30	92,12 \pm 0,97 ^c	55,44 \pm 4,61
4	15	30	100,27 \pm 1,06 ^{ab}	77,95 \pm 5,62
5	5	20	99,32 \pm 0,23 ^{ab}	82,30 \pm 5,60
6	15	20	110,71 \pm 1,10 ^e	138,73 \pm 7,82
7	10	10	99,35 \pm 1,87 ^{ab}	80,82 \pm 6,6
8	10	30	99,96 \pm 1,62 ^{ab}	62,67 \pm 4,67
9	10	20	90,21 \pm 0,76 ^c	128,21 \pm 9,92
10	10	20	92,11 \pm 2,39 ^c	80,75 \pm 6,51
11	10	20	94,44 \pm 1,10 ^{cd}	91,68 \pm 7,14

Valores são média \pm desvio. Valores com letras minúsculas iguais indicam que as amostras não diferem entre si pelo Teste de Tukey ($p < 0,05$).

Fonte: Elaborado pela autora (2019).

Quando o suco de açaí foi exposto a fluxos mais elevados (20 e 30 L/min) com tempos de 5 e 10 min os valores de atividade enzimática reduziram em torno de 10%. A aplicação

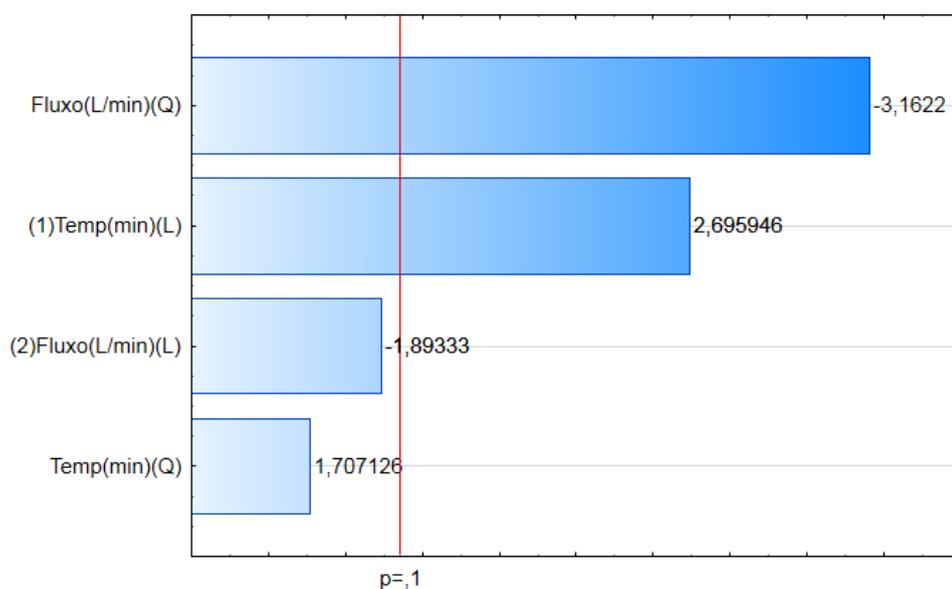
de fluxos mais elevados por tempos mais baixos seria uma abordagem interessante para a redução da atividade dessa enzima.

He-Ping Li et al., (2011) observaram que atividade da lipase pode ser aumentada significativamente após tratamento por jato de plasma (gás hélio – 10 L/min). O mesmo pode ser observado neste estudo, onde o ensaio 6 (15 min-20 L/min) apresentou atividade residual superior a 100%. O aumento da atividade residual da enzima polifenoloxidase pode estar relacionado a presença de isoenzimas e o aumento da concentração de compostos fenólicos quando o tempo foi elevado a 15 min (Tabela 11). Diferenças estruturais na enzima PPO podem conferir resistência aos tratamentos por plasma.

Os resultados obtidos para a peroxidase foram avaliados pela superfície de resposta, dado que o modelo matemático foi significativo a 90% de confiança. A atividade enzimática da amostra controle foi de $43,00 \pm 2,02$ UAE/min.

Para a peroxidase o gráfico de Pareto (Figura 12) mostra os efeitos do tempo e fluxo nas respostas avaliadas. O tempo linear e o fluxo quadrático exerceram efeito significativo ($p=0,1$) para a variável dependente (atividade residual). Ou seja, tempo de exposição mais baixo (5min) com fluxo de gás elevado (30 L/min) mostrou uma redução de aproximadamente 45% da atividade da enzima.

Figura 12 - Diagrama de Pareto para o efeito do processamento de plasma frio sobre a atividade residual da enzima peroxidase



Fonte: Elaborado pela autora (2019).

O modelo de regressão obtido para prever a atividade residual da peroxidase em função das variáveis independentes encontra-se representado na Equação 6. O valor de F calculado 5,41 para a Eq. (6) foi maior que o valor F tabelado 3,18 e o coeficiente de correlação $R^2 = 0,78$.

$$A.R\%_{\text{POD}} = 36,62 - 8,08 * x + 0,54 * x^2 + 9,09 * y - 0,25 * y^2 \quad (6)$$

Onde: A.R%_{POD} = Atividade residual da POD

;x= Tempo (min);

y= Fluxo

A análise de variância (ANOVA) para o modelo de regressão obtido é apresentada na Tabela 12. De acordo com a tabela de ANOVA, o valor de F calculado foi superior ao F tabelado (3,18) no intervalo de 90% de confiança, assim o modelo pode ser considerado estatisticamente de acordo com o teste F.

Tabela 12 - Análise de variância para atividade residual de peroxidase (POD)

Fonte de Variação	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	Valor de F
Regressão	3477,71	5	695,54	5,41
Resíduo	963,54	5	7,64	
Total	4441,25	10		
Coefficiente de Determinação	0,78			

Fonte: Elaborado pela autora (2019).

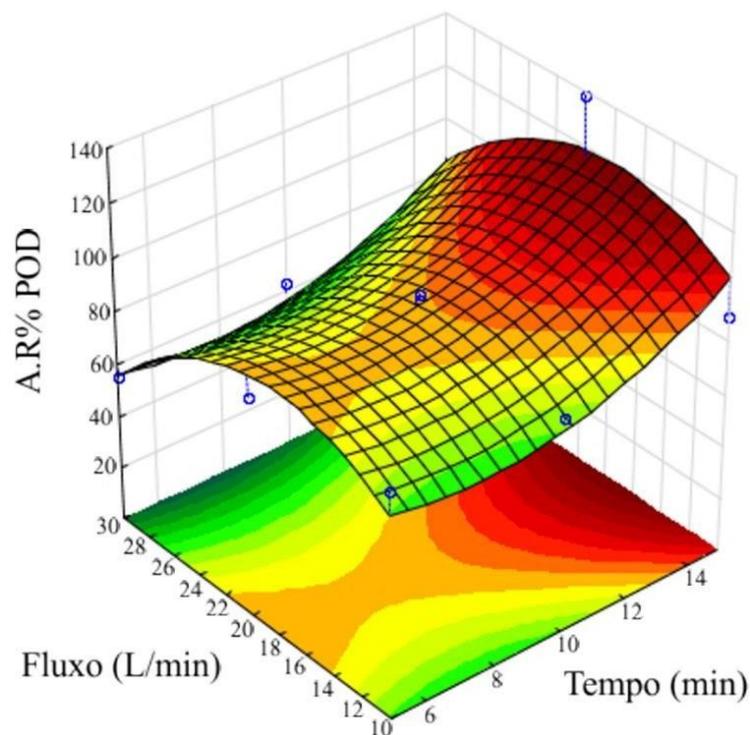
A superfície de resposta (Figura 13) para a variável POD apresentou ponto de sela. A análise do ponto crítico derivada da equação 06 mostrou que não existe um único ponto ótimo, mas sim, duas regiões ótima a inativação enzimática. O gráfico mostra que condições experimentais com fluxos superiores a 20 L/min e fluxos inferiores a 12 L/min com tempos inferiores a 10 minutos seria interessante para a busca de uma região otimizada para o processo.

De acordo com as duas regiões mostradas no gráfico de superfície de resposta (Figura 13) quando o maior fluxo de gás foi aplicado (30 L/min); independente do tempo de processamento foi observado um aumento seguido de redução na atividade enzimáticas da POD.

As espécies reativas de nitrogênio possuem uma contribuição significativa na degradação de compostos orgânicos, a oxidação de um único aminoácido em uma proteína pode afetar significativamente sua função levando a perda da sua atividade.

Enzimas como a fenol peroxidase e peroxidase de ascorbato (APX) são enzimas oxidantes que combatem os radicais livres (PUAČ et al., 2017; TAPPI et al., 2017). A enzima APX não foi realizada nesse trabalho, uma vez que o açaí não é fonte de ácido ascórbico. Diante do exposto a densidade de espécies reativas no plasma pode ter contribuído para o aumento ou redução da atividade enzimática. Existem variáveis que devem ser avaliadas para o processo de desnaturação de enzimas, como diferenças entre enzimas, condições de tratamento, meios enzimáticos utilizados, fonte de plasma e o volume tratado.

Figura 13 - Gráfico de superfície de resposta para o efeito do processamento por plasma frio sobre atividade residual da POD no suco de açaí



Fonte: Elaborado pela autora (2019).

3.3.3 Luz pulsada

3.3.3.1 Compostos fenólicos totais, antocianinas e atividade antioxidante

Os compostos fenólicos totais e atividade antioxidante foram avaliados pelo teste de Tukey ($p=0,05$). A tabela 13 mostra os valores obtidos.

O conteúdo fenólico total do suco de açaí não apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) entre as amostras submetidas a diferentes condições de processamento. O mesmo foi observado em Mangas “Kent” minimamente processadas (AGUILÓ-AGUAYO et al., 2013), melões cantaloupe minimamente processados (PEI CHEN et al., 2016) e morangos minimamente processados (AVALOS-LLANO; MARTÍN-BELLOSO; SOLIVA-FORTUNY, 2018). Então, sendo a luz pulsada um tratamento superficial e o conteúdo fenólico encontra-se em vacúolos, estes estão protegidos. O que pode ser avaliado para o suco de açaí é que as intensidades de luz aplicadas não foram suficientes para as reações fotoquímicas acontecerem e mostrar influência no conteúdo fenólico total.

O trabalho realizado por Kwaw et al., (2018) em suco de amora fermentado também não mostrou valores significativos em relação a amostra controle, mesmo as intensidades de luz sendo maiores ($1.213 \text{ Jcm}^{-2}/\text{pulso}$) do que as aplicadas no açaí. Karaoglan et al., (2019) avaliaram a cinética de degradação de antocianinas no suco de nabo fermentado também não observaram nenhuma tendência ao aumento de compostos fenólicos.

Com relação a antocianinas foi observado um aumento máximo de 31% no ensaio 3 ($0,9473 \text{ J/cm}^2$) tabela 12. Em um estudo realizado por Karaoglan et al., 2019 que estudaram cinética de degradação da antocianina e as alterações físico-químicas no suco fermentado de nabo exposto à luz ultravioleta pulsada (0.77 a 19.71 J/cm^2) com distancias da amostra para fonte de luz de 5, 8 e 13 cm por tempos de 5, 15, 30,45 e 60s. No entanto, os maiores níveis de antocianina monomérica foram detectados a 13 cm, que é a maior distância utilizada nesse estudo.

As distancias da fonte de luz utilizada para o suco de açaí foram de 11 cm em todos os tratamentos. É verificado que a distância da fonte de luz desempenha um papel importante na manutenção/aumento de compostos como as antocianinas. quanto mais distante da fonte de luz menor é a degradação das antocianinas, mesmo com o aumento da intensidade, pois a absorção de luz é menor.

Em relação a atividade antioxidante pode-se observar aumento em todos ensaios quando aplicado intensidades de $0,6 \text{ J/cm}^2$ para o ABTS e $0,9473 \text{ J/cm}^2$ para o DPPH e FRAP. Esses valores estão de acordo com o aumento observado nas antocianinas, pois compostos fenólicos e antocianinas desempenham papel antioxidante.

Tabela 13 - Valores obtidos para as concentrações dos compostos bioativos e atividade antioxidante do suco de açaí pós processamento por luz pulsada

Ensaio	Intensidade de Luz(J/cm²)	CFT (mg ácido gálico/L)	Antocianinas (mg cianidina-3-glucosídeo/L)	DPPH (μM Trolox/mL)	ABTS (μM Trolox/mL)	FRAP (mM ácido ascórbico)
C	-	2179,16 ± 97,65 ^a	95,46 ± 7,96 ^c	5870,66 ± 251,66 ^{ab}	10643,33 ± 375,27 ^c	4,46 ± 0,09 ^b
1	0,0857	2418,05 ± 94,64 ^a	106,20 ± 9,0 ^{bc}	5650,66 ± 172,43 ^b	4893,33 ± 225,46 ^a	4,10 ± 0,17 ^b
2	0,600	2312,50 ± 45,89 ^a	119,73 ± 8,14 ^{ab}	6277,33 ± 141,89 ^a	11993 ± 650,64 ^d	4,46 ± 0,18 ^b
3	0,9473	2248,61 ± 186,1 ^a	124,74 ± 5,50 ^a	6344 ± 202,97 ^a	7360,00 ± 708,87 ^b	5,59 ± 0,32 ^a

Valores são média ± desvio. Valores com letras minúsculas iguais indicam que as amostras não diferem entre si pelo Teste de Tukey (p < 0,05). Ensaio C: controle

Fonte: Elaborado pela autora (2019).

3.3.3.2 Atividade enzimática

A atividade das enzimas PPO e POD foram avaliados pelo teste de Tukey a nível de confiança de 95% ($p=0,05$). A Tabela 14 mostra os valores da atividade residual dessas enzimas.

Tabela 14 - Valores obtidos para atividades enzimáticas das enzimas PPO e POD do suco de açaí pós processamento por luz pulsada

Ensaio	Intensidade de Luz (J/cm ²)	Atividade Residual %	
		PPO	POD
C	-	-	-
1	0,0857	84,32±4,37 ^a	96,45±0,70 ^b
2	0,600	77,71±1,91 ^a	77,20±2,05 ^a
3	0,9473	103,88±4,13 ^b	75,08±1,05 ^a

Valores são média ± desvio. Valores com letras minúsculas iguais indicam que as amostras não diferem entre si pelo Teste de Tukey ($p < 0,05$).

Fonte: Elaborado pela autora (2019).

Para a atividade residual da enzima PPO foi observado uma redução no ensaio 2 (22,3%) e incremento no ensaio 3. A POD mostrou uma maior redução nos ensaios 2 e 3, porém não houve diferença significativa entre os ensaios. A redução foi de aproximadamente 25%.

Em um estudo realizado por Manzocco et al., (2013) para avaliar o efeito da luz pulsada na atividade da PPO foi verificado que esta enzima pode ser facilmente desnaturada pela luz pulsada, porém a concentração dessa enzima no meio irá determinar a taxa de desnaturação. No trabalho citado quando foram utilizadas concentrações maiores de enzimas (15, 26 ou 46 U) foi necessária uma fluência superior a 0,30 Jcm⁻² para uma redução de 50% na atividade da PPO. Além disso o autor relata que efeitos locais de sombreamento ocasionados por moléculas na superfície da amostra podem evitar os efeitos dos fótons de luz nas enzimas mais internas.

Esse efeito de sombreamento e a concentração de enzimas PPO no suco de açaí podem ter sido os fatores relevantes para a baixa desnaturação desta enzima. O suco de açaí possui muitas partículas em suspensão podendo ocasionar esse efeito de sombreamento e impedir que os fótons interajam com a estrutura da enzima e a modifique-a, perdendo assim, sua atividade. A concentração de enzimas PPO na amostra controle foi de 29,22 UAE/min e a máxima redução foi obtida no ensaio 2 (0,6 J/cm²).

Esse valor de fluência utilizado neste ensaio é duas vezes maior do que o trabalho de Manzocco et al., (2013) e a redução máxima não chegou a 50%, podendo ser explicado pelo efeito de sombreamento.

Para a enzima POD é observado decréscimo na atividade residual da enzima a medida que aumenta a intensidade de luz aplicada. Em um trabalho realizado por Pellicer et al., (2017) em POD de rábano, a inativação de 95% da atividade requer 128 Jcm^{-2} nas condições do ensaio realizado, em ambos os estudos (MANZOCCO; PANOZZO; NICOLI, 2013; PELLICER; GÓMEZ-LÓPEZ, 2017). Embora as concentrações de POD sejam maiores que de PPO no suco de açaí (amostra controle: $3255,33 \pm 36,46$) é observado redução da atividade residual à medida que a intensidade de luz aumenta. Como a concentração de POD no açaí, requer uma maior intensidade de luz, isso sugere o efeito de aglomeração citado por Manzocco et al., (2013), onde uma alta concentração pode gerar o efeito de aglomeração conferindo uma maior fotoestabilidade. Nesse sentido é necessário além da aplicação de uma maior intensidade de luz, utilizar um método para uma maior homogeneização do suco de açaí.

3.3.4 Processamento térmico

3.3.4.1 Compostos fenólicos totais, antocianinas e atividade antioxidante

Os compostos fenólicos totais, antocianinas e atividade antioxidante foram avaliados pelo teste de Tukey ($p=0,05$). A Tabela 15 mostra os valores obtidos.

Foi observado um aumento (40%) na concentração de compostos fenólicos pelo tratamento térmico. Nesse caso o tempo de processamento é de extrema importância, já que altas temperaturas por tempos prolongados podem degradar compostos bioativos. O aumento dos compostos fenólicos para o suco de açaí tratado a $90^\circ\text{C}/1 \text{ min}$ pode ser atribuído ao baixo tempo de processamento onde a taxa de liberação de compostos fenólicos das células em suas formas aglomeradas superou a taxa de degradação (CHEN; YU; RUPASINGHE, 2013).

O mesmo pode ser observado no estudo de Mehta et al., (2019) onde a pasteurização ($80^\circ\text{C}/2 \text{ min}$) reteve a concentração de compostos fenólicos totais ($180 \mu\text{g}$ ácido gálico/ ml) em bebida à base de tomate.

Tabela 15 - Valores obtidos para compostos fenólicos totais, antocianinas e atividade antioxidante do suco de açaí pós processamento térmico

	CFT (mg ácido gálico/L)	Antocianinas (mg cianidina - 3-Glucosídeo/L)	DPPH (μM Trolox/mL)	ABTS (μM Trolox/mL)	FRAP(mM de ácido ascórbico)
Processamento					
térmico (90°C/1min)	1945,83±58,00 ^a	123,18±3,42 ^a	2897±37,7 ^b	3376±94,2 ^a	2,44±0,05 ^b
Controle	1384,72±48,00 ^b	140,10±0,60 ^b	2290±117 ^a	3593±202 ^a	1,67±0,12 ^a

Valores são média \pm desvio. Valores com letras minúsculas iguais indicam que as amostras não diferem entre si pelo Teste de Tukey ($p < 0,05$).

Fonte: Elaborado pela autora (2019).

Para as antocianinas (Tabela 15) houve degradação (13%) em relação à amostra controle. Processos mecânicos convencionais rompem a parede celular e facilitam a liberação de polifenóis, mas também aceleram a degradação por meio de oxidação devido a liberação de enzimas polifenoloxidase e peroxidase (LI et al., 2017).

Alguns autores relatam degradação de antocianinas com o processamento térmico (MERCALI et al., 2013; PACHECO-PALENCIA; DUNCAN; TALCOTT, 2009; YOU et al., 2018), no entanto a estabilidade das antocianinas não está associada somente a temperatura, mas as propriedades intrínsecas da matriz alimentar e as características do processo. Condições de processamento como a temperatura explica o resultado para o processamento térmico que reduziu a concentração de antocianinas (13%) em relação a controle. Antocianinas são sensíveis a temperaturas acima de 70°C (LI et al., 2017).

O aumento dos compostos fenólicos influencia diretamente a atividade antioxidante. Os métodos de análise DPPH e FRAP mostraram aumento de 26,5% e 46% respectivamente (Tabela 15). O método ABTS não mostrou diferença significativa em relação a amostra controle.

O trabalho realizado por Mlček et al., (2016) em diferentes bebidas vegetais processadas por diferentes metodologias (alta pressão e pasteurização) mostrou diminuição da concentração de compostos fenólicos e conseqüentemente da atividade antioxidante total quando tratados termicamente, no entanto a capacidade antioxidante aumentou em suco de cenoura.

3.3.4.2 Atividade enzimática

Atividade enzimática da polifenoloxidase e peroxidase do suco de açaí foram avaliados pelo teste de Tukey ($p=0,05$). A Tabela 16 mostra os valores obtidos pós processamento.

Tabela 16 - Atividades das enzimas PPO e POD

	UAE/min*	
	PPO	POD
Processamento térmico (90°C/1min)	120,22±8,67 ^a	1990±35,55 ^a
Controle	112,33±9,61 ^a	3786±132,18 ^b

Valores são média ± desvio. Valores com letras minúsculas iguais indicam que as amostras não diferem entre si pelo Teste de Tukey ($p < 0,05$). *UAE/min: Unidade de atividade enzimática por minuto.

Fonte: Elaborado pela autora (2019).

A atividade residual da PPO após o tratamento térmico (90°C/1min) não houve diferença significativa entre as amostras. O tratamento térmico no suco de açaí pode ter ocasionado a liberação de polifenoloxidase ligadas a membrana aumentando, assim, a atividade enzimática. Essas PPOs latentes podem ser ativadas através de mudanças conformacionais sofridas pelo calor e liberadas das membranas após os danos sofridos (KARSTEN; HASTES; STRELITZIA, 2009). Embora alguns estudos relatem a sensibilidade da PPO em diferentes matrizes alimentares (VERHAEGHE et al., 2016; ZHOU et al., 2017) a PPO em suco de açaí se mostrou resistente ao tratamento térmico.

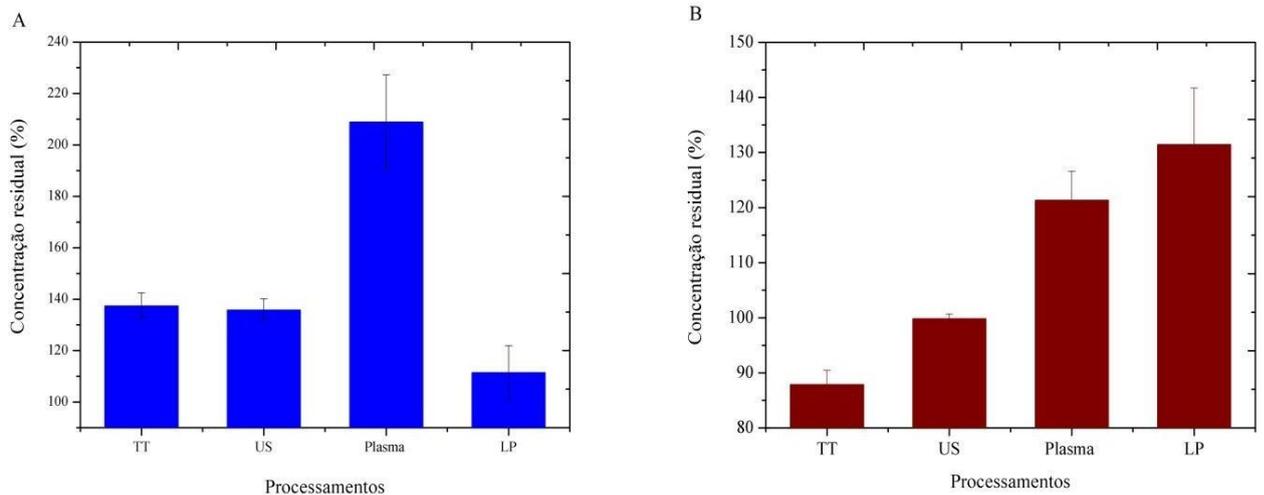
Para a POD houve redução na atividade em 48% no tratamento térmico o que está de acordo com Terefe et al., (2017) que estudaram a cinética de inativação (46 a 80°C) da POD e confirmaram a sensibilidade da enzima para o tratamento térmico. Foi verificado também nesse estudo a presença de mais de duas isoenzimas POD com diferentes graus de estabilidade para o tratamento térmico. Tao et al., (2018) estudaram a cinética de inativação (65 a 85°C) da POD em jaca e observaram ser mais resistente ao calor do que a PPO. Isso sugere que pode haver mais de um tipo de POD no suco de açaí com diferentes graus de estabilidade térmica. O que pode explicar também a resistência ao tratamento com ultrassom.

PPO e POD existem em diversas isoformas, podem diferir em massa molecular, temperatura ótima, pH ótimo, função fisiológica, latência e sensibilidade a inibidores. Além disso existem diferenças no conteúdo das enzimas entre espécies, cultivo, maturidade da planta, idade, partes da planta e tipos de processamentos (KARSTEN; HASTES; STRELITZIA, 2009; MADINEZ; WHITAKER, 1995; VEITCH, 2004).

3.4 Processamentos não-térmicos versus processamento térmico

As Figuras 14, 15 e 16 ilustram a eficiência dos processamentos não térmicos na retenção de compostos bioativos (compostos fenólicos e antocianinas) e atividade antioxidante e inativação das enzimas PPO e POD em comparação ao processamento térmico (90°C/1min). Dentre os processamentos não térmicos o plasma se destacou na extração de compostos fenólicos e a luz pulsada nas antocianinas em relação ao tratamento térmico (Figura 14).

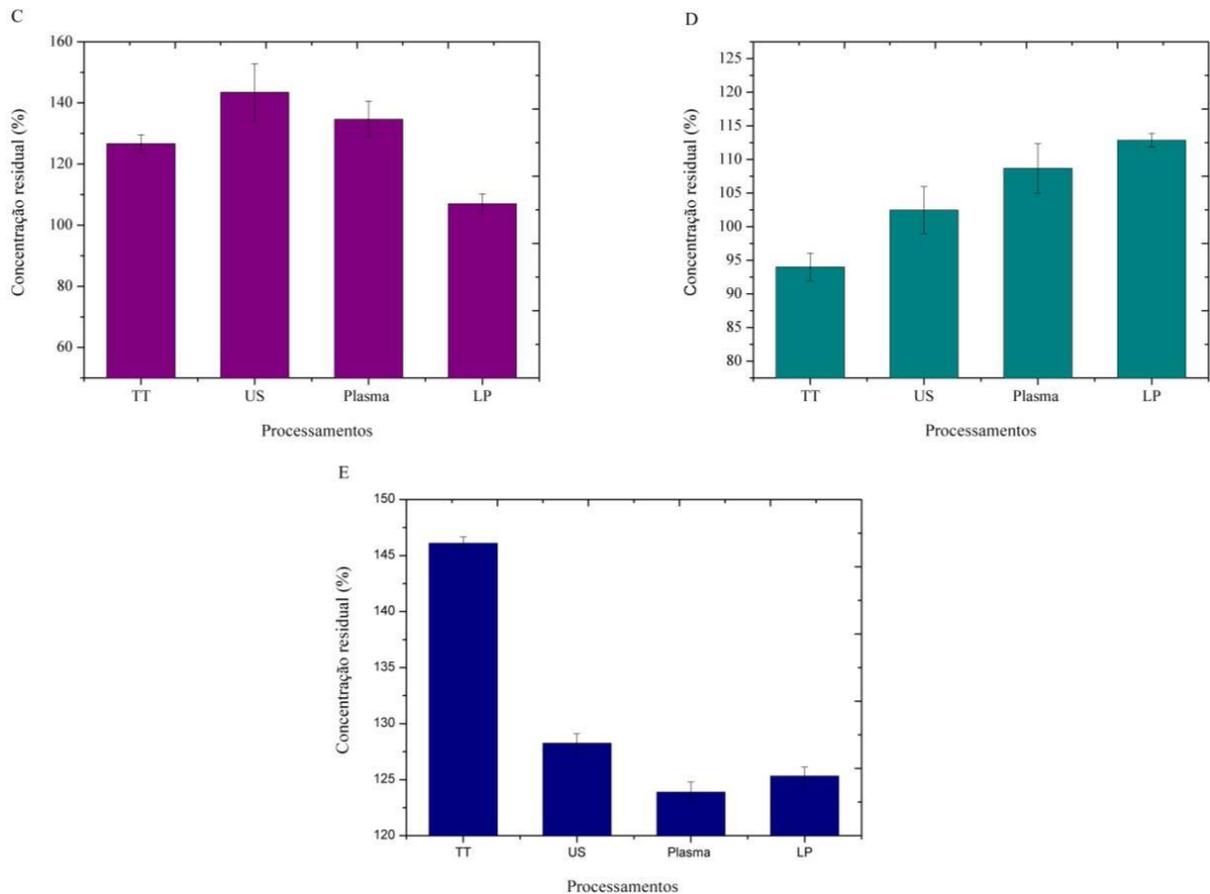
Figura 14 - TT (Tratamento térmico- 90°C/1min); A- Compostos fenólicos totais (US-2 min; 372,93 W.cm²/ Plasma- 15min; 20L/min/ LP- 0,0857 J/cm²); B- Antocianinas (US- 6 min; 75,00 W.cm²/ Plasma- 15min; 20L/min/ LP- 0,9473 J/cm²)



Fonte: Elaborado pela autora (2019).

Com relação à atividade antioxidante (Figura 15), todos os processamentos resultaram em um aumento da atividade pelos três métodos avaliados. Os métodos ABTS, DPPH e FRAP determinam a atividade antioxidante total através de diferentes mecanismos de ação. Os resultados obtidos dependerão da estrutura química do radical e da substância antioxidante, logo os resultados obtidos podem divergir dentre os métodos.

Figura 15 - TT (Tratamento térmico- 90°C/1min); C-DPPH (US- 2 min; 372,93 W.cm²/ Plasma-15min; 20L/min/ LP- 0,600 J/cm²); D- ABTS(US- 6 min; 226,00 W.cm²/ Plasma-15min; 20L/min/ LP-0,9473 J/cm²); E- FRAP (US-10 min; 75,00 W.cm²/ Plasma-15min; 20L/min/ LP-

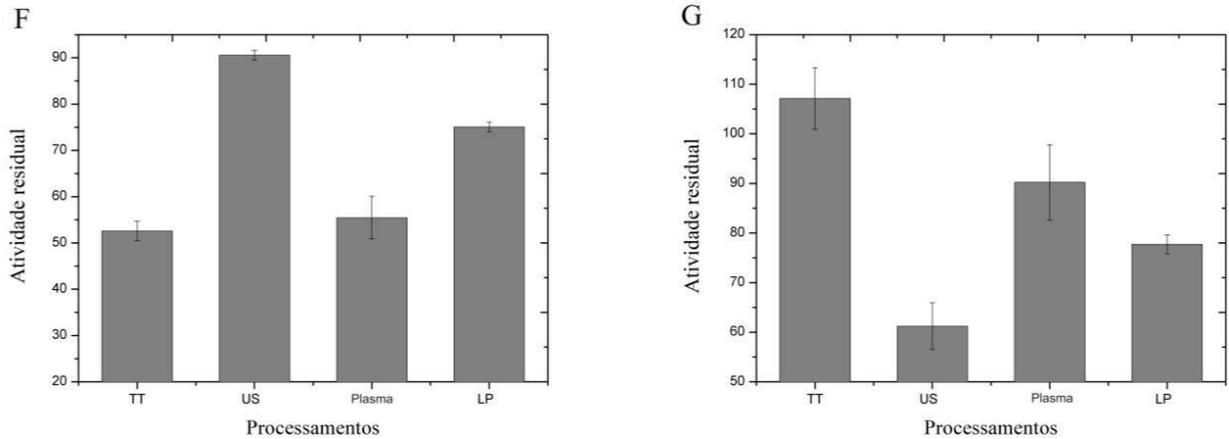


Fonte: Elaborado pela autora (2020).

Para a enzima peroxidase (Figura 16), os tratamentos por plasma e térmico mostraram menor atividade residual desta enzima. Quanto a PPO (Figura 16), o ultrassom se mostrou mais eficiente na inativação em relação aos outros tratamentos. A inativação de enzimas pode ser afetada por qualquer tratamento que afete sua estrutura molecular (TSIKRIKA et al., 2018)

As condições de tratamento podem causar inativação parcial ou total da atividade enzimática, fatores como tipo de enzima e fonte podem determinar a eficiência do processo. No ultrassom a rápida formação e colapso de bolhas alterar a conformação das enzimas. Tais alterações como aumento da temperatura, pressão, tensão de cisalhamento e pH, levam a inativação da enzimática. Além disso, a e sua formação de radicais livres pela sonólise da água pode reagir com os aminoácidos da estrutura da enzima, afetando a atividade enzimática função catalítica (MARQUES SILVA; SULAIMAN, 2018).

Figura 16 - TT (Tratamento térmico- 90°C/1min); F-representa a atividade residual da peroxidase (US- 2min; 266W.cm²/ Plasma- 5min; 30L/min/ LP- 0,600 J/cm²); G- atividade residual da polifenoloxidase (US- 6 min; 75,00 W.cm²/ Plasma- 5min; 30L/min/ LP- 0,9473 J/cm²)



Fonte: Elaborado pela autora (2019).

3.5 Conclusão

Os processamentos não térmicos avaliados foram efetivos para a liberação de compostos bioativos (compostos fenólicos e antocianinas) com relação ao processamento térmico. De todos os processamentos avaliados o plasma mostrou a maior extração dos compostos bioativos comparados ao processamento térmico. Sendo os compostos fenólicos um dos principais responsáveis pela atividade antioxidante em sucos de frutas a sua extração através dos tratamentos aplicados, favoreceu o aumento da atividade em todos os processamentos.

Quanto a atividade enzimática da PPO e POD, estas mostraram uma maior resistência aos tratamentos aplicados, porém, no processamento por plasma frio tempos de processamentos até 5 min conferiu uma maior desnaturação da POD com fluxos constantes de 30 L/min.

O processamento por ultrassom mostrou uma tendência a desnaturação da enzima PPO se as condições de processamento forem aumentadas. Essa tecnologia mostra potencial para ser combinada com outro processo e potencializar seus efeitos. Contudo mais estudos devem ser realizados para a otimização desses processos de forma individual e sequenciais entre si.

4 PROCESSAMENTOS SEQUENCIAIS, ESTABILIDADE E BIOACESSIBILIDADE

Efeito do processamento térmico e não térmico no suco de açaí durante a armazenamento e bioacessibilidade

Maria de Fátima D. Linhares, Elenilson G. Alves Filho, Lorena Mara A. Silva; Thatyane V. Fonteles, Nédio Jair Wurlitzer; Edy S. de Brito, Fabiano A. N. Fernandes, Sueli Rodrigues

RESUMO

Os efeitos dos processamentos não térmicos, térmicos e tratamentos sequenciais nos compostos fenólicos, antocianinas, atividade antioxidante e atividade enzimática (PPO e POD) e bioacessibilidade do suco de açaí durante a estocagem foram avaliados. As respostas foram analisadas através da análise de componentes principais (PCA). Os processamentos foram separados por períodos de armazenamento no eixo PC1. Nos escores positivos estão localizadas as amostras de menor período de armazenamento (0 e 30 dias), devido às maiores quantidades de vitamina C, antocianinas, PPO, POD, DPPH, ABTS e FRAP, que diminuíram após maiores períodos de armazenamento (45 e 60 dias) em escores negativos. Por outro lado, as amostras armazenadas por 45 e 60 apresentaram as maiores quantidades de fenólicos totais. Em particular, apenas amostras processadas termicamente localizadas em escores positivos de PC1 independente do período de armazenamento, diminuíram as porcentagens de PPO, POD, DPPH, ABTS e FRAP com o aumento do período de armazenamento. Esse fato revela o maior efeito do processamento térmico nas respectivas variáveis após maiores períodos de armazenamento, uma vez que as amostras processadas não termicamente seguem as amostras de controle em diferentes períodos de armazenamento. Quanto aos tratamentos sequenciais, estes apresentaram aumento nas quantidades de POD e PPO após o processamento não térmicos. Foi observado também que o armazenamento sob refrigeração e a ordem combinada de processamento não apresentaram efeito relevante sobre a os compostos bioativos do suco de açaí. Em relação a bioacessibilidade os teores de compostos fenólicos e antocianinas se mostraram reduzidos após o processo de digestão *in vitro*. Esses resultados mostram que o monitoramento de tecnologias térmicas e não térmicas nos compostos de interesse nutricional são importantes para ações preventivas a degradação dos mesmos.

Palavras-chave: não térmicos, açaí, estabilidade, compostos bioativos.

4.1 Introdução

Açaí (*Euterpe Oleracea*) é uma palmeira de grande porte presente em pântanos e regiões de terras altas no norte do Brasil. O aumento do consumo deste fruto deve-se aos benefícios relatados na literatura, como, o potencial antioxidante o teor de polifenóis, antocianinas, ácidos graxos monoinsaturados e fibras presentes no açaí (AUGUSTI et al., 2016; OLIVEIRA et al., 2002; YAMAGUCHI et al., 2015). O processamento térmico continua sendo a abordagem empregada para conservação de sucos de frutas (MISRA et al., 2016). Entretanto existem questões relacionadas aos efeitos adversos do tratamento térmico que afetam as propriedades sensoriais e nutricionais do alimento (RAWSON et al., 2011). As tecnologias não térmicas de conservação como, ultrassom, luz pulsada e plasma são alternativas para garantir uma maior segurança alimentar com danos mínimos às propriedades nutricionais e sensoriais do alimento (AADIL et al., 2015)(ALMEIDA, 2015).

A aplicação do ultrassom pode alterar os componentes bioativos presentes nos alimentos. Algumas alterações decorrentes do processamento de alimentos por ultrassom são a formação de radicais livres, perda de adesão, extração de compostos químicos ligados a membranas celulares e ruptura de células (RODRIGUES BATISTA et al., 2015). Assim, o ultrassom pode ser aplicado para melhorar as características sensoriais e nutricionais dos alimentos produzidos por processos térmicos tradicionais.

A luz pulsada também é considerada uma tecnologia emergente para preservação de alimentos e representa uma boa alternativa para o aumento da vida de prateleira de sucos industrializados (AGCAM; AKYILDIZ; AKDEMIR EVRENDILEK, 2016; AGUILÓ-AGUAYO et al., 2017). Além disso, causa a perda mínima na qualidade nutritiva e produz maior retenção no *flavour* devido ao seu baixo efeito na permeabilidade (AGUILÓ-AGUAYO et al., 2013; PATARO et al., 2015b; SIDDIQUE et al., 2017).

A energia dissipada durante a geração do plasma frio é capaz de quebrar ligações covalentes e iniciar numerosas reações químicas, além disso as espécies oxidativas produzidas durante a descarga de plasma (oxigênio reativo e espécies de nitrogênio) podem causar a peroxidação de lipídios, oxidação de proteínas e DNA e aumentar a ruptura da parede das células e proporcionar um aumento da taxa de transferência de massa (BURSAC KOVAČEVIĆ et al., 2016; MOREAU; ORANGE; FEUILLOLEY, 2008; RAMAZZINA et al., 2015). Portanto, é de interesse elucidar e compreender as interações de espécies de plasma com compostos bioativos, a fim de evitar a degradação nutricional ou qualquer outro efeito indesejado (FERNANDES; SANTOS; RODRIGUES, 2019; GRZEGORZEWSKI et al., 2010).

Além das técnicas de conservação individuais o uso de tratamentos sequenciais pode oferecer vantagens, como reduzir a severidade do tratamento evitando degradação de compostos de interesse (OLIVEIRA et al., 2018). Diante de tantos métodos de conservação aplicados aos alimentos é de suma importância que a bioacessibilidade de compostos nutricionais não seja afetada negativamente. Dos métodos de avaliação da bioacessibilidade de compostos a digestão *in vitro* pode simular a absorção de compostos bioativos no intestino delgado e é mais comumente usados (BARBA et al., 2017; CARBONELL-CAPELLA et al., 2014).

Entre os métodos de processamento comumente utilizados e as tecnologias emergentes estudadas é necessário avaliar os impactos causados por essas tecnologias (isoladas ou combinadas) nos compostos bioativos. Assim como, as alterações que esses compostos sofrem ao longo do tempo de estocagem. Nesse contexto, este estudo procurou avaliar o efeito do ultrassom, plasma e luz pulsada, processamentos não térmicos e tratamentos sequenciais nos compostos bioativos e sua biodisponibilidade, assim como também na atividade antioxidante e atividade enzimática durante estocagem.

4.2 Material e métodos

4.2.1 Preparação do suco

O suco foi preparado a partir da polpa da fruta congelada (Petrus Fruity) diluída na proporção de 1:2 (polpa: água), conforme recomendação do fabricante.

4.2.2 Processos não térmicos

Inicialmente, os sucos de açaí foram submetidos a cinco diferentes processamentos não térmicos, os quais estão detalhados logo abaixo: plasma; ultrassom; luz pulsada; combinação por plasma seguido de ultrassom; e ultrassom seguido de plasma.

4.2.2.1 Plasma

Para os testes foram utilizados 140 mL de suco para cada amostra. As amostras foram embaladas a vácuo (embalagem tipo Nylon-Poli com espessura 0.12 mm e tamanho de 20x25 cm). O processamento foi realizado em um gerador de plasma frio de descarga luminosa modelo Venus PE-50 (ETCH, Estados Unidos) composto por um eletrodo horizontal (4,5"W x 6"D + 2,5"C), uma fonte de alimentação de 50 KHz, uma bomba de vácuo modelo 5CFM com 2 estágios diretos e uma câmara de alumínio (5,5"W x 7" D x 3,5"H). O equipamento é ainda equipado com válvulas de gás computadorizadas altamente precisas e repetíveis para o controle da taxa de fluxo do gás injetado. O sistema é totalmente automatizado e controlado pelo software Plasma Etch,

Inc. fornecido pelo fabricante. O gás utilizado foi o ar sintético e os parâmetros de fluxo e tempo são apresentados na Tabela 17.

4.2.2.2 *Ultrassom*

Amostras de 150 mL do suco de açaí foram colocadas em um reator de vidro encamisado de 250 mL e processadas em um Desruptor/Sonicador Ultrassônico (Ultronique QR500) de 500 W/cm² com frequência constante de 19 kHz e macropona de titânio de 13 mm. A macropona de titânio foi submersa no suco em uma profundidade de 1,5 cm. As intensidades de energia ultra-sônica dissipada pela ponta de titânio foram calculadas de acordo com a Eq. 7 e estão apresentadas na Tabela 17 (LI; PORDESIMO; WEISS, 2004).

$$I = \frac{P}{\pi r^2} \quad (7)$$

Onde r é o raio (cm) da macropona de titânio e P (Watt) é a potência aplicada. A temperatura foi controlada durante todo o processamento em 23 °C.

4.2.2.3 *Luz Pulsada*

Uma alíquota de 15 mL de suco (altura do filme de 0,5 cm) foi colocada em placa de petri de vidro aberta a uma distância de 11 cm da lâmpada de aplicação do pulso de luz. O processamento foi realizado no equipamento Intense Pulsed UV R&D System modelo XeMatica-2L-SA da marca SteriBeam Systems e o parâmetro avaliado (intensidade de luz) está representado na Tabela 17.

4.2.3 *Tratamento sequencial de ultrassom e plasma*

O tratamento combinado foi realizado de duas formas. Primeiramente uma amostra de 150 mL de suco de açaí foi colocado em um reator de vidro encamisado de 250 mL e processado em ultrassom (500 W/cm² com frequência constante de 19 kHz) por 10 min a uma potência de 372,93 W/cm². Em seguida esse volume foi transferido para tubos falcon de 50 mL e embalados a vácuo embalagem tipo Nylon-Poli com espessura 0.12 mm e tamanho de 20x25 cm e tratados por plasma com fluxo de 30 L/min durante 10min. O gás utilizado foi o ar sintético. O processo inverso foi realizado e as amostras foram codificadas como: US-Plas (Ultrassom seguido da aplicação do plasma) e Plas-US (Plasma seguido da aplicação do ultrassom).

4.2.4 Processamentos térmicos

As amostras de suco de açaí foram submetidas a três tratamentos térmicos. O primeiro processamento térmico foi realizado a 90 °C por 1 min em banho-maria (SOLAB modelo 150/10), seguindo a metodologia proposta por (ODRIOZOLA-SERRANO; SOLIVA-FORTUNY; MARTÍN-BELLOSO, 2008). Este foi codificado como térmico. Para o processamento UHT- ultra alta temperatura (esterilização), o tempo de retenção a 138 °C foi de 6 s usando um trocador de calor tubular Armfield (modelo FT74). O suco foi resfriado a 25°C com o chiller Armfield FT63 e embalado em frascos transparentes (tereftalato de etileno - PET) de 210 mL e fechado com tampa de polipropileno. O mesmo equipamento foi utilizado para o processamento de HTST- tempo curto de alta temperatura (pasteurização), que foi realizado a 90 °C com um tempo de retenção de 6 min. Os sucos UHT e HTST foram engarrafados na capela de enchimento asséptico. Todas as embalagens (garrafas PET) foram previamente esterilizadas com solução de ácido peracético (0,5%) e lavadas com água esterilizada antes do enchimento (ALVES FILHO et al., 2018).

4.2.5 Estabilidade do suco

Após os processamentos as amostras foram acondicionadas a 4 °C por 60 dias. Foram realizadas análises de compostos antioxidante (compostos fenólicos totais, antocianinas e vitamina C), atividade antioxidante (DPPH, ABTS e FRAP) e atividade enzimática (PPO e POD) em 0, 30, 45 e 60 dias. Os parâmetros utilizados para os processamentos não térmicos foram determinados a partir de resultados do planejamento experimental. As variáveis tempo, potência, fluxo e intensidade de luz são mostrados na Tabela 17.

Para os processamentos sequenciais e térmicos (UHT e HTST) as amostras pós processamento foram armazenadas sob refrigeração a 4 °C e temperatura ambiente e as análises foram realizadas a cada 15 dias.

Tabela 17 - Parâmetros utilizados para os tratamentos de ultrassom, plasma e luz pulsada

Ensaio	Ultrassom		Plasma		Luz Pulsada
	Potência (W/cm ²)	Tempo (min)	Fluxo (L/min)	Tempo (min)	Intensidade de luz (J/cm ²)
1	372,93	2	20	15	0,0857
2	372,93	10	30	10	-

Fonte: Elaborado pela autora (2019).

As amostras foram codificadas da seguinte forma: US0.1/US30.1/US45.1/US60.1-ultrassom (2 min-372,93 W/cm²); US0.2/US30.2/US45.2/US60.2-ultrassom (10 min-372,93 W/cm²); LP- luz pulsada (0,0857 J/cm²); Térmico-tratamento térmico (90 °C/1min); Plas 0.1/ Plas30.1/Plas45.1/Plas60.1-plasma (20L/min/15min); Plas0.2/Plas30.2/Plas45.2/Plas60.2-plasma (30L/min/10min).

4.2.6 *Atividade enzimática*

Para a determinação da peroxidase (POD) e da polifenoloxidase (PPO), a extração enzimática foi realizada de acordo com a metodologia descrita por (WISSEMAN; LEE, 1980). Foram utilizados 500 µl de suco de açaí mais 500 µl de tampão fosfato de potássio (0,05M pH 7,0) contendo 1% (p/v) de polivinilpirrolidona (PVP). A mistura foi centrifugada em centrífuga Sigma® 6K15 (10,733 g por 30 min a 4 °C). O sobrenadante foi usado como fonte de enzima. A determinação da atividade de polifenoloxidase foi realizada através da mistura 100 µL do extrato enzimático mais 616 µL de tampão fosfato 0,1 M pH 6,0 contendo Catecol 0,1 M. O ensaio foi incubado em banho-maria a 30°C/30 min. Após o tempo de incubação a reação foi interrompida com adição de 266 µL de ácido perclórico 2N. Uma alíquota de 200 µL foi transferida para uma microplaca e a absorbância da amostra foi lida a 395 nm em espectrofotômetro ELISA Epoch. A atividade enzimática da POD foi medida usando 50 µL de extrato enzimático com 91,6 µl de tampão fosfato (sódio) - citrato (ácido cítrico) (0,1 M pH 5) contendo 1% (v/v) de guaiacol e 8,3 µL de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) 3%. A mistura foi incubada a 30 °C durante 5 min. A reação foi interrompida com a adição de 16,6 µl de Bissulfito de sódio a 30% (p/v). A leitura foi realizada em espectrofotômetro (Epoch ELISA) a 470 nm. Uma unidade de atividade enzimática (1 UEA) foi definida como a quantidade de enzima que causa uma mudança de 0,001 na absorbância por minuto (FONTELES et al., 2012). As atividades residuais das enzimas PPO e POD após os tratamentos foram calculadas através da Eq. 8.

$$A. R(\%) = \frac{A_t}{A_0} * 100 \quad (8)$$

Onde A_t correspondem às atividades enzimáticas das amostras tratadas com os processamentos não térmicos e A₀ amostra controle.

4.2.7 *Compostos fenólicos totais*

A concentração de compostos fenólicos foi determinada seguindo o método de Folin-Ciocalteu (FOLIN; CIOCALTEAU, 1927) com modificações de (ALMEIDA, 2015).

A análise foi realizada com uma mistura reacional de 10 µl da amostra de suco (1:10), 200 µl de reagente de Folin-Ciocalteu diluído 1:10. A reação foi interrompida com 100 µl de carbonato de sódio a 20% após 3 min de reação. A absorbância foi lida a 765 nm em espectrofotômetro Epoch ELISA. Uma curva padrão de ácido gálico foi feita para expressar os resultados em mg de ácido gálico / L de suco.

4.2.8 *Quantificação de antocianinas*

A quantificação das antocianinas foi realizada de acordo com o método diferencial de pH. Foram utilizados tampões de cloreto de potássio 0,025M pH 1,0 e acetato de sódio 0,4M pH 4,5 para as extrações. A absorbância foi medida a 520 e 700 nm. As antocianinas foram expressas como cianidina-3-glicosídeo (coeficiente de extração molar de 26.900 Lcm⁻¹mol⁻¹ e peso molecular de 449,2 g mol⁻¹). Utilizou-se um leitor de microplacas Epoch ELISA e as amostras foram replicadas três vezes. A concentração de antocianinas no pigmento equivalente a cianidina-3-glicosídeo foi calculada pela equação 8. Este método é descrito em detalhes por Lee; Durst; Wrolstad, 2015.

$$\text{EC cyanidin} - 3 - \text{glucoside} = \frac{A * PM * FD * 10^3}{\epsilon * L} \quad (9)$$

Onde: A é absorbância ($(A_{520} - A_{700})_{\text{pH}1,0} - (A_{520} - A_{700})_{\text{pH}4,5}$); PM: peso molecular de PM 449,2 g/mol de cianidina-3-glucido; FD: fator de diluição; L: caminho óptico em cm; ϵ : coeficiente de extração molar 26900 Lcm⁻¹mol⁻¹.

4.2.9 *Vitamina C*

A vitamina C foi determinada espectrofotometricamente de acordo com metodologia proposta por Selimović; Salkić; Selimović, 2011, com adaptações de Fernandes et al., 2015. Uma alíquota de 20 µL do suco de açai foi diluída em 980 µL de tampão contendo fosfato monobásico anidro 0,03 M e fosfato de sódio dibásico anidro 8,99.10⁻⁴ M, pH 5.4. Foi adicionado ao tampão 0,075% de oxalato de sódio. A mistura foi homogeneizada e em seguida centrifugada (10000 g, por 5 min a 4 °C). uma alíquota de 200 µL do sobrenadante foi retirado e lido em espectrofotômetro Epoch ELISA a 266nm. Uma curva de calibração foi preparada com solução padrão de ácido ascórbico. Os valores foram expressos em mg/L.

4.2.10 *Atividade antioxidante*

A atividade antioxidante do suco de açaí foi determinada espectrofotometricamente utilizando os métodos DPPH, ABTS e FRAP (BENZIE; STRAIN, 1996; BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSET, 1995; RE et al., 1999). O radical DPPH (0,06 mM, em álcool etílico) foi preparado no momento da análise. O experimento foi conduzido com a mistura reacional entre 45 µl de amostra diluída (1:10) e 1800 µL do radical DPPH. A leitura da absorbância foi realizada após 30 minutos de reação a 517 nm em Espectrofotômetro Thermo Fisher Scientific (modelo Evolution 201 - USA). Uma curva padrão de trolox foi feita para expressar os resultados em µM trolox/mL de suco. O ensaio ABTS foi realizado com modificações de Almeida, 2015. O radical ABTS foi preparado 16 horas antes do ensaio. O radical foi diluído em álcool etílico até atingir uma absorbância de 0,7 (\pm 0,05) a 734 nm. Uma alíquota de 15 µl de suco de açaí (1:10) foi misturada com 1500 µl de radical ABTS• + e a absorbância foi medida após 6 minutos contra o branco, utilizando o Espectrofotômetro Thermo Fisher Scientific (modelo Evolution 201, EUA). Trolox foi usado como o padrão antioxidante. Os resultados foram expressos em µM trolox/mL de suco. O método FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) baseia-se no poder antioxidante da Redução de Ferro (RUFINO et al., 2007). Soluções de cloreto férrico 20 mM, tampão acetato 300 mM pH 3,6 e TPTZ (2,4,6-Tris (2-piridil)-s-triazina 10 mM) em 40 mM HCl foram preparadas. A solução de trabalho foi preparada na proporção de 10:1:1 (tampão acetato: cloreto férrico:TPTZ). A mistura reacional consistiu em 15 µl da amostra diluída 1:10 mais 285 µl da solução de trabalho FRAP. A absorbância foi então lida a 593 nm no espectrofotômetro Epoch ELISA após 30 minutos. Uma curva padrão de ácido ascórbico foi construída para expressar os resultados em mM de ácido ascórbico.

4.2.11 *Avaliação in vitro dos compostos bioativos*

A avaliação da bioacessibilidade dos compostos bioativos nos sucos de açaí foi realizada de acordo com o método in vitro adaptado de Liserre; Ré; Franco, 2007 com adaptações realizadas por Buriti; Castro; Saad, 2010. Foram transferidos 10 mL de suco de açaí pós processamento para 3 frascos estéreis. O experimento foi realizado em triplicata de cada processamento, totalizando 15 frascos. Posteriormente, o pH foi ajustado para o intervalo de 2,0-2,5 com HCl 1N. Foram adicionadas as enzimas pepsina e lipase em concentrações 3 g/L e de 0,9 mg/L, respectivamente. Todos os frascos foram incubados a 37 °C, sob agitação de 150 rpm, durante 2 horas, representando a fase gástrica. Após este período, o pH das amostras foi ajustado para o intervalo entre 4,5 e 5,5, utilizando tampão pH 12 (150 mL de NaOH 1N e 14 g de PO₄H₂Na.2 H₂O para 1 L de água destilada). Bile e pancreatina foram adicionados em

concentrações de 10 g/L e 1 g/L, respectivamente. As amostras foram, novamente, incubadas a 37°C, mantendo-se a agitação de 150 rpm por mais 2 horas, representando a fase entérica 1. Na última etapa, o pH foi ajustado para o intervalo entre 6,5 e 7,5, utilizando a mesma solução alcalina da etapa anterior. Foram adicionadas, novamente, bile e pancreatina, a fim de manter as concentrações de 10 g/L e 1 g/L, respectivamente. As amostras foram incubadas, novamente, a 37°C por 2 horas sob agitação, representando a fase entérica 2 e totalizando 6 horas de ensaio. Ao final das 6 horas de simulação da digestão, alíquotas foram coletadas de cada triplicata de amostra para a quantificação dos compostos bioativos.

4.2.12 *Análise quimiométrica*

A avaliação quimiométrica exploratória foi feita por Análise de Componentes Principais (PCA) para investigar a influência de diferentes processamentos e tempos de armazenamento nos compostos bioativos, atividades enzimáticas e antioxidantes da polpa do açaí. Cada tipo de processamento foi realizado em triplicata, e as amostras foram nomeadas da seguinte forma: US1 - ultrassonografia durante 2 min/100 W/cm²; US2 - ultrassonografia durante 10 min/W/cm²; PL - luz pulsada abaixo de 0,0857 J/cm²; TT - tratamento térmico a 90 °C/1 min; Plas1 - plasma abaixo de 20 L/min/15 min; e Plas2 - plasma 30 L/min/10 min. Adicionalmente, a influência dos processamentos não térmicos sequenciais (plasma seguido de ultrassom nomeado como Plas-US, e ultrassom seguido de plasma como US-Plas) bem como a refrigeração durante o período de armazenamento foram avaliados. Portanto, duas matrizes numéricas foram construídas utilizando os dados brutos e exportadas para análise quimiométrica utilizando o programa Unscrambler X™ 10.4 (Software CAMO, Woodbridge, NJ, EUA). As informações mais relevantes de acordo com o objetivo do trabalho foram adquiridas a partir das duas primeiras componentes principais (2 PC), com os dados após o pré tratamento por autoescalamento.

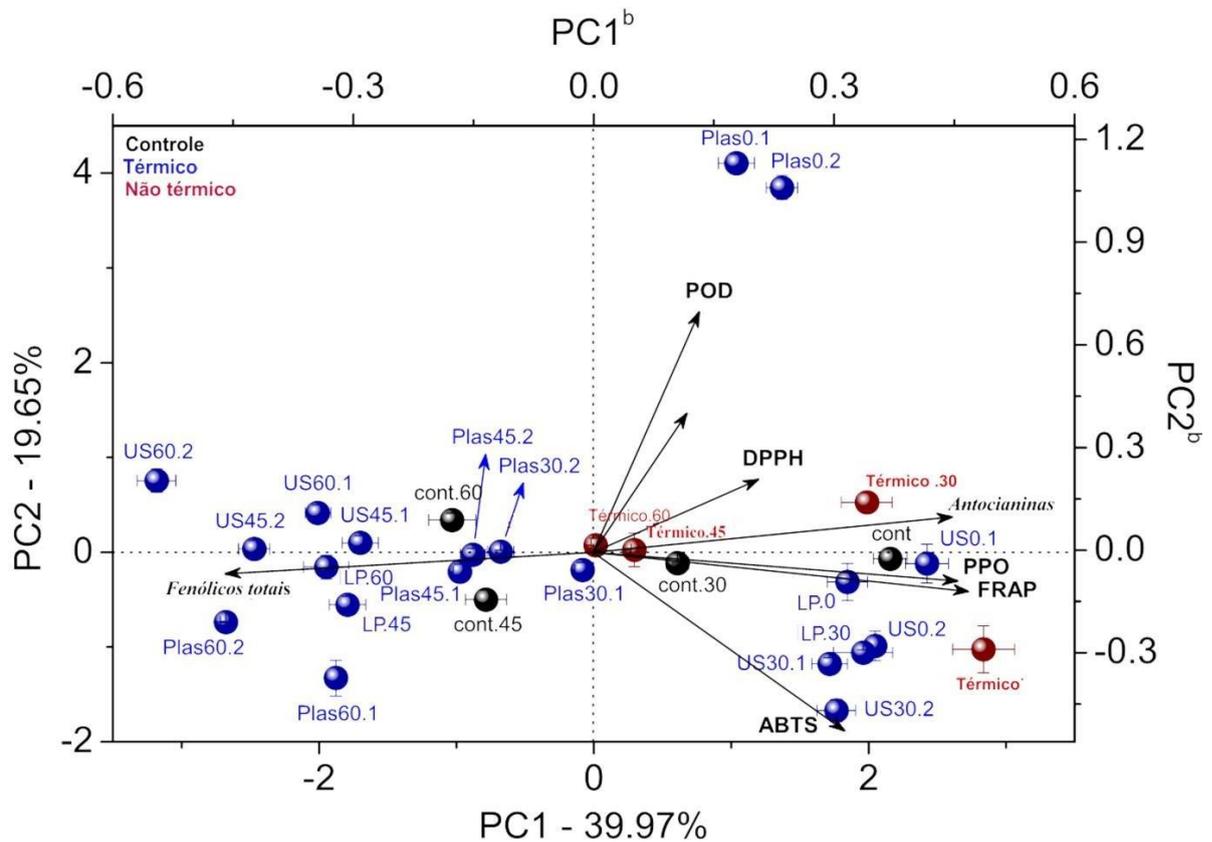
4.3 Resultados e discussão

4.3.1 *Efeito dos processamentos térmicos e não-térmicos nos compostos bioativos e enzimas no armazenamento do suco de açaí*

A análise por componentes principais (PCA) foi realizada com o objetivo de entender a influência dos processamentos não térmicos por plasma (Plas), ultrassom (US), luz pulsada (PL) e térmico nas concentrações dos compostos bioativos e atividade antioxidante do suco de açaí. Desta forma, foram avaliados o efeito de diferentes parâmetros dos processamentos não térmicos, bem como o tempo de armazenamento após todos os processamentos (térmico e não térmico), os quais estão apresentados na Figura 17.

As barras de erro nas amostras indicam o desvio padrão da triplicata de cada processamento.

Figura 17 - Coordenadas das pontuações PC1 vs PC2 durante 60 dias de armazenamento representando 60% da variância total. US0.1/ US30.1/ US45.1/ US60.1- ultrassom (2min-372,93 W/cm²); US0.2/ US30.2/ US45.2/ US60.2- ultrassom (10min-372,93 W/cm²); LP- luz pulsada (0,0857 J/cm²); Thermal - tratamento térmico (90°C/1min); Plas0.1/ Plas30.1/ Plas45.1/ Plas60.1- plasma (20L/min/15min); Plas0.2/ Plas30.2/ Plas45.2/ Plas60.2- plasma (30L/min/10min). Os valores 0, 30, 45 e 60 foram os dias avaliados. ^aEixo referente ao escore; ^bEixo referente aos *loadings*, com suas respectivas variáveis representadas por vetores



Fonte: Elaborado pela autora (2019).

O eixo PC1 foi a principal componente responsável para avaliação da distribuição das amostras de acordo com os diferentes processamento e armazenamento. De uma maneira geral, os resultados por PCA apresentam a baixa influência dos processamentos não térmicos por plasma, ultrassom e luz pulsada na composição dos sucos de açaí, já que estas amostras se distribuíram da mesma forma que as amostras controle (suco não processado) no gráfico de escores: nos escores positivos de PC1 estão localizadas as amostras controle e aquelas processadas não termicamente após os menores períodos de armazenamento (0 e 30 dias) devido

às maiores quantidades de vitamina C, antocianinas, PPO, POD, DPPH, ABTS e FRAP, que reduziram após os maiores períodos de armazenamento (45 e 60 dias) representados pelas amostras em escores negativos. Por outro lado, as amostras processadas não termicamente e o controle após armazenamento por 45 e 60 dias (localizadas em escores negativos de PC1) apresentaram as maiores quantidades de fenólicos totais.

Todos os sucos processados termicamente se localizaram em valores positivos de PC1 devido as altas quantidades de vitamina C, antocianinas, PPO, POD, DPPH, ABTS e FRAP, as quais não reduziram após 45 e 60 dias de armazenamento, como ocorreu com as amostras controle e processadas não termicamente. Esse fato revela o efeito do processamento térmico nas respectivas variáveis após maiores períodos de armazenamento, uma vez que as amostras processadas não termicamente seguem as amostras de controle em diferentes períodos de armazenamento. Esse aumento dos compostos bioativos submetidos a maiores períodos de armazenamento após o processamento térmico pode estar correlacionado à sua extração de polpa suspensa no meio, o que pode ser explicado de acordo com as avaliações de Alves Filho et al.(2018) que identificaram produtos de degradação dessa vitamina em suco de acerola prebiótica processado por tratamentos térmicos e não térmicos (CHIZOBA EKEZIE; SUN; CHNG, 2017).

Alguns fatores podem explicar o aumento da atividade antioxidante durante 30 dias de armazenamento, como a neutralização de radicais livres através de compostos antioxidantes como as antocianinas (MARQUES SILVA; SULAIMAN, 2018). Esses compostos podem ser lixiviados para o meio através de danos causados a parede polissacarídica levando ao rompimento/despolimerização através da cavitação ultrassônica, espécies reativas, como peróxido de hidrogênio, que permanecem ativas após a exposição ao plasma (SUROWSKY; BUSSLER; SCHLÛTER, 2016). O mecanismo de ação da luz pulsada também favoreceu o aumento das antocianinas.

Avalos-Llano et al., (2018) relataram que não foram encontradas diferenças significativas no conteúdo total de antocianinas imediatamente após os tratamentos com luz pulsada em morangos minimamente processados, mas houve uma discreta diminuição durante o armazenamento. Karaoglan et al., (2019) avaliaram a cinética de degradação de antocianinas no suco de nabo fermentado e não observaram nenhuma tendência ao aumento de compostos fenólicos. Porém é observado nesse estudo que a distância entre a fonte de luz e a amostra pode influenciar na manutenção de compostos como as antocianinas. Quanto mais distante da fonte de luz menor é a degradação das antocianinas, pois a absorção de luz é menor. No estudo feito com o suco de açaí a distância da fonte de luz foi de 11 cm, o que foi importante para a manutenção/aumento das antocianinas.

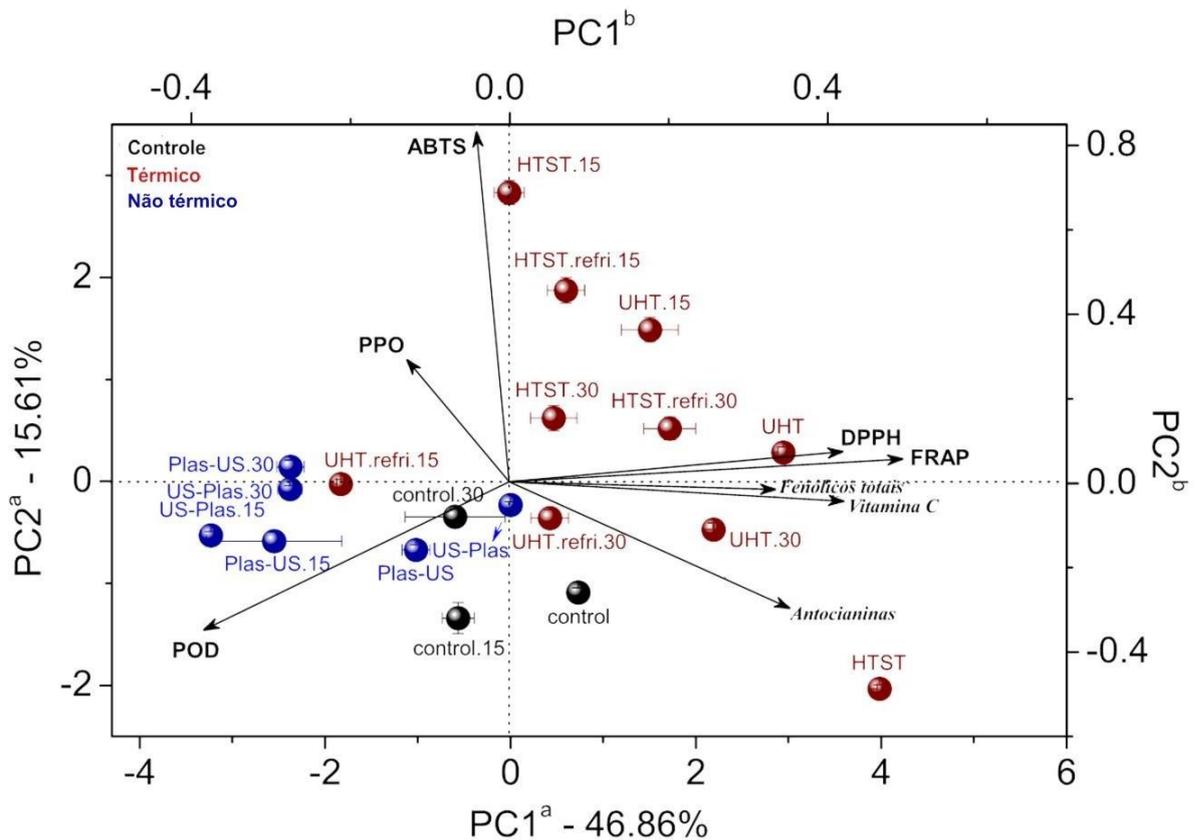
Quanto a atividade enzimática sabe-se que a estrutura das enzimas determina sua funcionalidade e as reações da exposição aos tratamentos não térmicos podem alterar sua estrutura. Plasma, luz pulsada e processamento de ultra-som são capazes de extrair compostos bioativos inativando enzimas através de espécies reativas de nitrogênio e oxigênio, luz ultravioleta e fenômeno de cavitação (AVALOS-LLANO; MARTÍN-BELLOSO; SOLIVA-FORTUNY, 2018; CHEMAT et al., 2017; SUROWSKY; BUSSLER; SCHLÝTER, 2016). O tempo de exposição, a intensidade do tratamento, a temperatura e as características da matriz também determinam a eficiência do processamento.

4.3.2 Efeito detalhado do processamento não térmico combinado em comparação com o processamento térmico

Baseado nos efeitos mais relevantes dos processamentos térmicos após os períodos mais longos de armazenamento (45 e 60 dias), bem como a combinação de processamentos não térmicos por plasma e ultrassom, e o respectivo do armazenamento refrigerado, foram avaliadas as influências destes tratamentos nas porcentagens dos compostos bioativos, atividades enzimáticas e antioxidantes. A Figura 18 apresenta os resultados adquiridos da avaliação exploratória por PCA. As barras de erro indicam o desvio padrão da triplicata de cada processamento.

Em geral, o armazenamento refrigerado dos sucos de açaí após os processamentos não térmicos sequenciais, bem como a ordem destes processamentos não apresentaram efeito relevante na composição amostral. Adicionalmente, os resultados mostram uma tendência de separação mais forte de acordo com o eixo PC1 baseada no processamento térmico e não térmico. Os sucos de açaí localizados em escores negativos apresentam aumentos nas quantidades de POD e PPO após o processamento não térmico (amostras azuis). A aplicação de processos não térmicos sequenciais ainda é pouco abordada na literatura e mais resultados ainda são necessários para o melhor entendimento do uso de tecnologias combinadas como plasma e ultrassom. Porém, a aplicação dessas tecnologias isoladas em diversas matrizes pode fornecer informações para compreender sua forma de ação quando aplicadas de forma sequenciais.

Figura 18 - PCA da avaliação de diferentes processamentos sequenciais e dois tempos de armazenamento (0, 15 e 30 dias) sobre os compostos bioativos, atividades enzimáticas e antioxidantes da polpa do açaí. Tempo curto de alta temperatura (pasteurização) - HTST; ultra alta temperatura (esterilização) - UHT; plasma seguido de ultra-sons (Plas-US); ultra-som seguido de plasma (US-Plas); HTST.refri e UHT.refri - sob refrigeração. ^aAxis referem-se a pontuações das amostras; ^aEixo referente ao escores; ^bEixo referente aos *loadings*, com suas respectivas variáveis representadas por vetores



Fonte: Elaborado pela autora (2019).

Enzimas como PPO e POD encontram-se nas células vegetais na sua forma latente e é ativada quando entra em contato com seu substrato fenólico. Sabe-se que tecnologias como ultrassom e plasma podem atuar como ferramenta de extração de compostos, enzimas e proteínas (CHEMAT et al., 2017; MUSIELAK; MIERZWA; KROEHNKE, 2016) ultrassom através dos danos mecânicos (cavitação acústica) causados a superfície celular e o plasma através da interação das espécies reativas.

Outro fator que pode determinar as taxas de extração maior que a desnaturação em uma determinada matriz alimentar são as variáveis envolvidas no processo. Condições utilizadas como tempo, potência e fluxo de gás geram espécies reativas com tempo de vida que pode variar de minutos a horas (MISRA et al., 2019). A exposição a essas espécies pode causar a inativação

parcial da enzima pela mudança da sua conformação e dependendo da enzima e fonte vegetal esta pode recuperar sua estrutura e voltar a sua atividade com o tempo.

Esses resultados estão de acordo com o estudo realizado por Oliveira et al., (2018) em suco de açaí processado por tratamento combinado de ultrassom e ozônio. Nesse trabalho a atividade enzimática da PPO para os tratamentos sequenciais foi superior aos tratamentos com processos únicos. Nesse estudo o processo ultra-sônico foi realizado primeiro e o ozônio foi ineficaz na inativação enzimática, a atividade da PPO foi maior para os tratamentos sequenciais.

Por outro lado, os sucos de açaí em escores positivos do mesmo PC destacaram aumento de antocianina, vitamina C, fenólicos totais e atividade antioxidante (FRAP e DPPH) após processamento térmico (amostras vermelhas), que diminuíram com o tempo de armazenamento. Embora o tratamento térmico possa aumentar a taxa de degradação de fitoquímicos a medida que a temperatura aumenta, o tempo de contato com o calor e sólidos presentes no suco podem reduzir a transferência de calor possibilitando uma taxa de extração maior que a de degradação (Alves Filho et al. 2017).

É certo que o processamento térmico pode causar complexas reações físicas e químicas que afetam a composição de compostos bioativos como fenólicos e antocianinas, incluindo a liberação destes compostos de suas formas aglomeradas, polifenóis de degradação, decomposição e transformação de fenólicos (CHEN; YU; RUPASINGHE, 2013). Condições de processamento, reologia do fluido, viscosidade, capacidade de escoamento, partículas sólidas no meio também devem ser levado em consideração quando um processamento térmico é aplicado, pois tais parâmetros podem contribuir para que a dispersão do calor no material não seja uniforme.

A tendência a diminuição desses compostos durante o armazenamento pode estar relacionado a espécies frutíferas, condições do processamento e preservação empregadas, além de que compostos mais sensíveis ao calor podem se tornar mais sensíveis a oxidação química por serem excelentes doadores de hidrogênio (HUANG et al., 2016; TEMBO; HOLMES; MARSHALL, 2017).

Quanto a vitamina C, está pode ser explicada segundo Alves Filho et al., (2018) que apresentaram efeito positivo sobre o teor de vitamina C dos sucos prebióticos de acerola após o processamento térmico, evidenciando que a redução da vitamina C com o tempo pode estar relacionada principalmente à influência do oxigênio e período de armazenamento.

Em particular, os sucos processados por HTST e UHT durante 15 dias de armazenamento localizaram-se em escores positivos de PC2 e apresentaram maior atividade antioxidante pelo método ABTS, que diminuíram com o tempo de armazenamento.

4.3.3 Bioacessibilidade

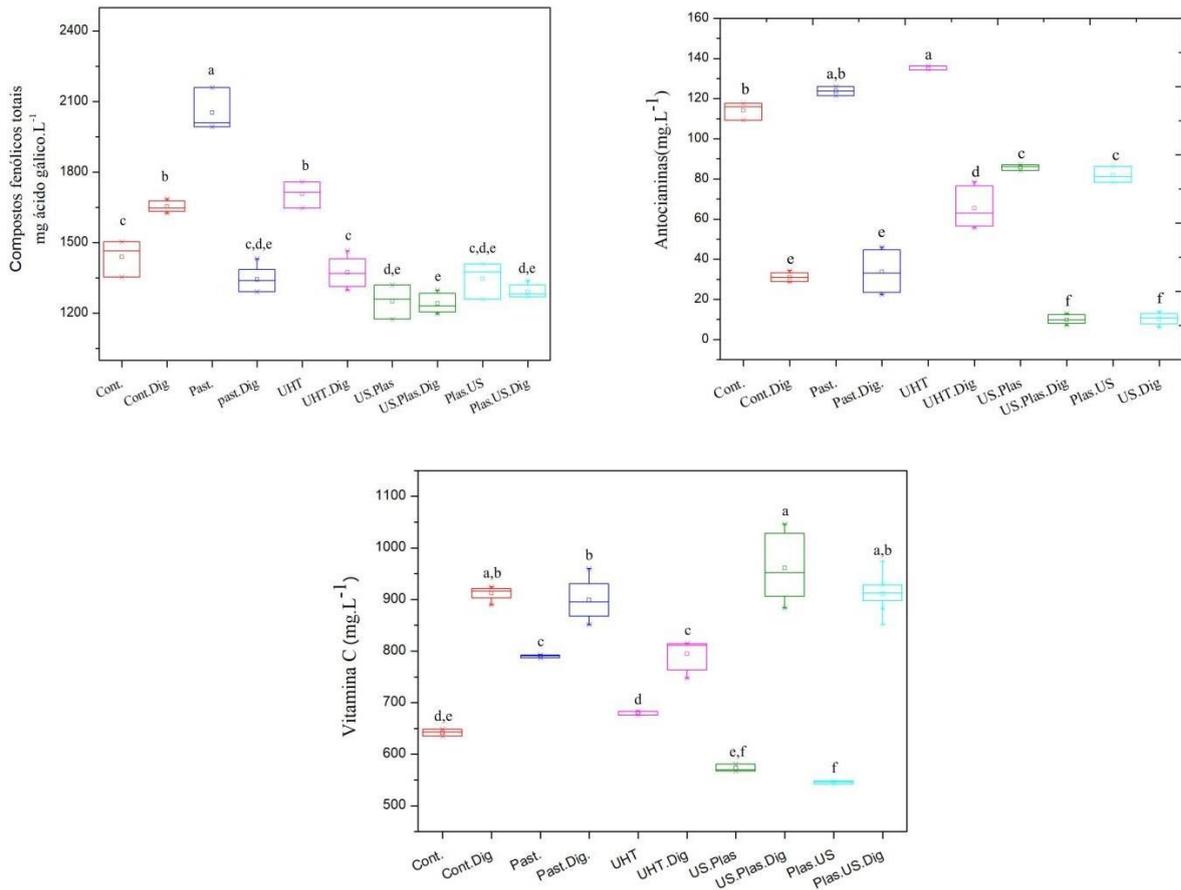
A bioacessibilidade envolve a quantidade ou fração de um composto ou nutriente que é liberada da matriz alimentar no trato gastrointestinal e se torna disponível para absorção, sendo geralmente avaliada por procedimentos de digestão *in vitro* simulando a digestão gástrica e do intestino delgado (CARBONELL-CAPELLA et al., 2014). A avaliação dos compostos fenólicos totais, antocianinas e vitamina C do suco de açaí pós-processamento foram avaliados pelo teste de tukey ($p=0,05$) e estão representados na figura 19.

Como pode ser visto na Figura 19 a concentração de compostos fenólicos após a digestão reduziu cerca de 20% em todos os ensaios em relação à amostra controle. Quanto ao tratamento térmico observa-se maior bioacessibilidade em relação aos outros tratamentos. O tratamento térmico pode modificar a parede celular e liberar substâncias fenólicas ligadas às células, aumentando o seu conteúdo (HE et al., 2016).

He et al., (2016) avaliaram a biodisponibilidade de compostos fenólicos em maçã, uva e suco de laranja após processamento por alta pressão, tratamento térmico e homogeneização e não foi observado aumento na biodisponibilidade de fenólicos a partir de suco de uva e laranja comparado a amostras não tratadas, enquanto uma diminuição significativa na bioacessibilidade fenólica total (26 e 29%). Em produtos vegetais, a maioria dos compostos fenólicos é encontrada como formas glicosiladas como ésteres ou polímeros que são hidrolisadas pelas enzimas intestinais ou microflora (BARBA et al., 2017).

Quanto as antocianinas, estas são degradadas em unidades de monômero ou dímero antes de chegar ao final da digestão. Porém processos tecnológicos utilizados na conservação de alimentos como térmicos e não térmicos podem modificar/quebrar a estrutura da molécula facilitando a sua absorção ao longo do processo de digestão. O que pode ser observado na Figura 19, é redução da bioacessibilidade das amostras de suco tratados por processos sequenciais. Estes processos podem ter facilitado à quebra desses compostos melhorando processo de digestão (CARBONELL-CAPELLA et al., 2014).

Figura 19 - Efeito dos tratamentos térmicos e não térmicos sequenciais na bioacessibilidade dos compostos fenólicos totais, antocianinas e vitamina C do suco de açaí. HTST- tempo curto de alta temperatura (pasteurização); UHT- ultra alta temperatura (esterilização); US-Plas- ultrassom seguido de plasma; Plas-US - plasma seguido de ultrassons. A abreviação Dig.: após a digestão *in vitro*



Fonte: Elaborado pela autora (2019).

Em relação à bioacessibilidade da vitamina C as amostras processadas por tratamentos sequenciais não tiveram diferença significativa em relação à amostra controle. Segundo a FAO/OMS a necessidade diária de vitamina C é de 40 e 45 mg por dia de vitamina C. Segundo Fonteles et al., (2016) a vitamina C sofre oxidação no início do processo de digestão por ser doador de elétrons e se mantém no estado reduzido podendo se regenerar na sua forma ativa a partir de outros constituintes. O que pode explicar o aumento da vitamina C em todos os tratamentos aplicados, inclusive a amostra controle, após a digestão.

Quanto aos processamentos não térmicos sequenciais, não foi verificada influência significativa ($p=0,05$) na bioacessibilidade quanto à ordem de aplicação dos processos. Porém houve redução da bioacessibilidade desses compostos (compostos fenólicos, antocianinas) ao

final do processo de digestão. Tecnologias como ultrassom e plasma podem desencadear inúmeras reações que podem tanto afetar positivamente como negativamente os compostos presentes. Ambos os processos geram a formação de radicais livres e espécies reativas que interagem com as moléculas do meio onde se encontram e podem modificá-las afetando o resultado da bioacessibilidade desses compostos (CHEMAT et al., 2017; MANDAL; SINGH; PRATAP SINGH, 2018). Parâmetros como potência, tempo e fluxos devem ser avaliados a fim de se encontrar um equilíbrio para que esses compostos cheguem ao final da digestão com o máximo de aproveitamento para o organismo.

A bioacessibilidade dos compostos bioativos dos alimentos pós-processamento é função de inúmeros fatores como: parâmetros do processamento, tipo de processamento, concentração inicial dos compostos, compostos provenientes da quebra/modificação dos compostos originais e a presença de componentes que afetam a composição e estrutura da matriz alimentar. Antioxidantes presentes e liberados da matriz de frutas e vegetais pela ação de enzimas digestivas (intestino delgado) e microflora bacteriana (intestino grosso) são bioacessíveis no intestino e, portanto, potencialmente biodisponíveis (CILLA et al., 2018).

4.4 Conclusão

As condições experimentais mostraram que o tratamento térmico logo após o processamento foi o melhor tratamento aumentando a concentração de compostos fenólicos e atividade antioxidante, porém durante os dias de armazenamento houve aumento da atividade enzimática e degradação de compostos bioativos o que torna esse processamento questionável em relação a qualidade se sucos no mercado. Os processamentos não térmicos agrupam-se em valores negativos de PC1 após 60 dias de estocagem mostrando similaridade entre os processamentos e influenciando aumento/manutenção de compostos fenólicos.

Quanto ao processamento combinado, este não mostrou diferença na forma de aplicação do processo, mas houve extração enzimática elevando os valores de PPO e POD. Os processamentos térmicos mostraram aumento na antocianina, vitamina C, fenólicos totais e atividade antioxidante, porém reduzindo com o tempo de armazenamento.

Em relação a bioacessibilidade os teores de compostos fenólicos e antocianinas se mostraram reduzidos após o processo de digestão, porém as tecnologias aplicadas podem ter facilitado essa redução através da quebra/modificação das estruturas desses compostos. Contudo, é necessário ainda o monitoramento dos efeitos dos tratamentos térmicos e não térmicos nos compostos bioativos do suco de açaí, visando a melhoria do processamento e no planejamento de ações preventivas contra produtos de degradação relacionados.

5 CONCLUSÕES GERAIS

De todos os processamentos avaliados o plasma mostrou a maior extração para compostos fenólicos comparados ao processamento térmico. Quanto a atividade enzimática da PPO e POD, estas mostraram uma maior resistência aos tratamentos aplicados, porém, no processamento por plasma frio conferiu uma maior desnaturação da POD com fluxos constantes de 30 L/min.

Quanto a estabilidade do suco de açaí pós processamento, não houve diferença entre os tratamentos após 60 dias de estocagem mostrando aumento /manutenção de compostos fenólicos. Em relação ao processamento sequencial não houve diferença na forma de aplicação do processo.

Em relação a bioacessibilidade os teores de compostos fenólicos e antocianinas se mostraram reduzidos após o processo de digestão. Contudo, é necessário ainda o monitoramento dos efeitos dos tratamentos térmicos e não térmicos nos compostos bioativos do suco de açaí. Nesse sentido, mais estudos devem ser realizados para a otimização desses processos de forma individual e sequenciais entre si.

REFERÊNCIAS

- AADIL, R. M.; ZENG, X.; SUN, D.; WANG, M.; LIU, Z.; ZHANG, Z. Combined effects of sonication and pulsed electric field on selected quality parameters of grapefruit juice. **LWT - Food Science and Technology**, [S.L.], 2015.
- AGCAM, E.; AKYILDIZ, A.; AKDEMIR EVRENDILEK, G. A comparative assessment of long-term storage stability and quality attributes of orange juice in response to pulsed electric fields and heat treatments. **Food and Bioproducts Processing**, [S.L.], v. 99, p. 90–98, 2016.
- AGUILÓ-AGUAYO, I.; CHARLES, F.; RENARD, C. M. G. C.; PAGE, D.; CARLIN, F. Pulsed light effects on surface decontamination, physical qualities and nutritional composition of tomato fruit. **Postharvest Biology and Technology**, [S.L.], p. 29–36, 2013.
- AGUILÓ-AGUAYO, I.; GANGOPADHYAY, N.; LYNG, J. G.; BRUNTON, N.; RAI, D. K. Impact of pulsed light on colour, carotenoid, polyacetylene and sugar content of carrot slices. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, [S.L.], v. 42, n. December 2016, p. 49–55, 2017.
- ALEXANDRE, D.; CUNHA, R. L.; HUBINGER, M. D. **Conservação do açaí pela tecnologia de obstáculos**. Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, v. 24, n. 1, p. 114–119, 2004.
- ALICIA, C. E.; PILOMI-MARTINI, J.; RAMÍREZ-MORENO, E.; ALANÍS-GARCÍA, E.; GUEMES-VERA, N.; GÓMEZ-ALDAPA, C. A.; ZAFRA-ROJAS, Q. Y.; CRUZ-CANSINO, N. D. S. Enzymatic inactivation and antioxidant properties of blackberry juice after thermoultrasound: Optimization using response surface methodology. **Ultrasonics Sonochemistry**, [S.L.], v. 34, p. 371–379, 2017.
- ALMEIDA, F. D. L.; CAVALCANTE, R. S.; CULLEN, P. J.; FRIAS, J. M.; BOURKE, P.; FERNANDES, F. A. N.; RODRIGUES, S. Effects of atmospheric cold plasma and ozone on prebiotic orange juice. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, [S.L.], v. 32, p. 127–135, 2015.
- ALMEIDA, F. D. L. **Emprego de tecnologias emergentes no processamento de suco de laranja adicionado de fruto-oligossacarídeos e suco de laranja produzido via síntese enzimática**. 2015. 110 f. Tese (Doutorado) - Curso de Biotecnologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2015.
- ALVES FILHO, E. G.; SILVA, L. M. A.; BRITO, E. S.; WURLITZER, N. J.; FERNANDES, F. A. N.; RABELO, M. C.; FONTELES, T. V.; RODRIGUES, S. Evaluation of thermal and non-thermal processing effect on non-prebiotic and prebiotic acerola juices using ¹H qNMR and GC-MS coupled to chemometrics. **Food Chemistry**, [S.L.], p. 23–31, 2018.
- ASOKAPANDIAN, S.; PERIASAMY, S.; SWAMY, G. J. Ozone for Fruit Juice Preservation. **Elsevier Inc.**, [S.L.], 2017.
- AUGUSTI, P. **Valor nutricional, perfil de compostos bioativos e atividade antioxidante de genótipos de açaí (*Euterpe oleracea*)**. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, v. 55, n. 51, p. 131, [S.L.], 2016.

AVALOS-LLANO, K. R.; MARTÍN-BELLOSO, O.; SOLIVA-FORTUNY, R. Effect of pulsed light treatments on quality and antioxidant properties of fresh-cut strawberries. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 264, p. 393–400, out. 2018.

BARBA, F. J.; MARIUTTI, L. R. B.; BRAGAGNOLO, N.; MERCADANTE, A. Z.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V.; ORLIEN, V. Bioaccessibility of bioactive compounds from fruits and vegetables after thermal and nonthermal processing. **Trends in Food Science and Technology**, [S.L.], v. 67, p. 195–206, 2017.

BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. **Analytical Biochemistry**, [S.L.], v. 239, n. 1, p. 70–76, 1996.

BERMÚDEZ-AGUIRRE, D.; WEMLINGER, E.; PEDROW, P.; BARBOSA-CÁNOVAS, G.; GARCIA-PÉREZ, M. Effect of atmospheric pressure cold plasma (APCP) on the inactivation of *Escherichia coli* in fresh produce. **Food Control**, [S.L.], v. 34, n. 1, p. 149–157, 2013.

BRAGA, T. R.; SILVA, E. O.; RODRIGUES, S.; FERNANDES, F. A. N. Drying of mangoes (*Mangifera indica L.*) applying pulsed UV light as pretreatment. **Food and Bioprocess Processing**, [S.L.], v. 114, p. 95–102, 2019.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, [S.L.], v. 28, n. 1, p. 25–30, 1995.

BURITI, F. C. A.; CASTRO, I. A.; SAAD, S. M. I. Viability of *Lactobacillus acidophilus* in synbiotic guava mousses and its survival under in vitro simulated gastrointestinal conditions. **International Journal of Food Microbiology**, [S.L.], v. 137, n. 2–3, p. 121–129, 2010.

BURSAĆ KOVAČEVIĆ, D.; PUTNIK, P.; DRAGOVIC-UZELAC, V.; PEDISIC, S.; JAMBRAK, A. R.; HERCEG, Z. Effects of cold atmospheric gas phase plasma on anthocyanins and color in pomegranate juice. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 190, p. 317–323, 2016a.

BURSAĆ KOVAČEVIĆ, D.; PUTNIK, P.; DRAGOVIC-UZELAC, V.; PEDISIC, S.; JAMBRAK, A. R.; HERCEG, Z. Effects of cold atmospheric gas phase plasma on anthocyanins and color in pomegranate juice. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 190, p. 317–323, 2016b.

BUSSMANN, R. W.; ZAMBRANA, N. Y. P. Facing global markets - Usage changes in Western Amazonian plants: The example of *Euterpe precatoria Mart.* and *E. oleracea Mart.* **Acta Societatis Botanicorum Poloniae**, [S.L.], v. 81, n. 4, p. 257–261, 2012.

CAMPOLI, S. S.; ROJAS, M. L.; AMARAL, J. E. P. G.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G.; AUGUSTO, P. E. D. Ultrasound processing of guava juice: Effect on structure, physical properties and lycopene in vitro accessibility. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 268, n. June, p. 594–601, 2018.

CAO, X.; CAI, C.; WANG, Y.; ZHENG, X. The inactivation kinetics of polyphenol oxidase and peroxidase in bayberry juice during thermal and ultrasound treatments. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, [S.L.], v. 45, n. September 2017, p. 169–178, 2018.

- CARBONELL-CAPELLA, J. M.; BUNIEWSKA, M.; BARBA, F. J.; ESTEVE, M. J.; FRIGOLA, A. Analytical methods for determining bioavailability and bioaccessibility of bioactive compounds from fruits and vegetables: A review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, [S.L.], v. 13, n. 2, p. 155–171, 2014.
- CASSANI, L.; GERBINO, E.; MOREIRA, M. R.; GÓMEZ-ZÁVAGLIA, A. Influence of non-thermal processing and storage conditions on the release of health-related compounds after in vitro gastrointestinal digestion of fiber-enriched strawberry juices. **Journal of Functional Foods**, [S.L.], v. 40, n. November 2017, p. 128–136, 2018.
- CHEMAT, F.; ROMBAUT, N.; SICAIRE, A.; MEULLEMIESTRE, A.; FABIANO-TIXIER, A.; ABERT-VIAN, M. Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. **Ultrasonics Sonochemistry**, [S.L.], v. 34, p. 540–560, 2017.
- CHEN, B. Y.; LUNG, H.; YANG, B. B.; WANG, C. Pulsed light sterilization of packaging materials. **Food Packaging and Shelf Life**, [S.L.], v. 5, p. 1–9, 2015.
- CHEN, Y.; YU, L. J.; RUPASINGHE, H. P. V. Effect of thermal and non-thermal pasteurisation on the microbial inactivation and phenolic degradation in fruit juice : a mini-review. **Science of food and agriculture**, [S.L.], 2012.
- CHENG, X.; ZHANG, M.; XU, B.; ADHIKARI, B.; SUN, J. The principles of ultrasound and its application in freezing related processes of food materials: A review. **Ultrasonics Sonochemistry**, [S.L.], v. 27, p. 576–585, 2015.
- CHUTIA, H.; KALITA, D.; MAHANTA, C. L.; OJAH, N.; CHOUDHURY, A. J. Kinetics of inactivation of peroxidase and polyphenol oxidase in tender coconut water by dielectric barrier discharge plasma. **LWT - Food Science and Technology**, [S.L.], v. 101, November 2018, p. 625– 629, 2019.
- COUTINHO, N. M.; SILVEIRA, M. R.; ROCHA, R. S.; MORAES, J.; FERREIRA, M. V. S.; PIMENTEL, T. C.; FREITAS, M. Q.; SILVA, M. C.; RAICES, R. S. L.; RENADHEERA, C. S.; BORGES, F. O.; MATHIAS, S. P.; FERNANDES, F. A. N.; RODRIGUES, S.; CRUZ, A. G. Cold plasma processing of milk and dairy products. **Trends in Food Science and Technology**, [S.L.], v. 74, n. October 2017, p. 56–68, 2018.
- DIAS, D. DA R. C.; BARROS, Z. M. P.; CARVALHO, C. B. O.; HONORATO, F. A.; GUERRA, N. B.; AZOUBEL, P. M. Effect of sonication on soursop juice quality. **LWT - Food Science and Technology**, [S.L.], v. 62, p. 883–889, 2015.
- FARIAS, E. E. **Estudo do Plasma Produzido por Descarga Elétrica no Limiar da Transição Townsend-Glow**. Universidade Federal Fluminense, Niterói-RJ, 2006.
- FERNANDES, F. A. N.; RODRIGUES, S.; CÁRCEL, J. A.; GARCÍA-PÉREZ, J. V. Ultrasound-Assisted Air-Drying of Apple (*Malus domestica* L.) and Its Effects on the Vitamin of the Dried Product. **Food and Bioprocess Technology**, [S.L.], v. 8, n. 7, p. 1503–1511, 2015.
- FERNANDES, F. A. N.; GALLÃO, M. I.; RODRIGUES, S. Effect of osmosis and ultrasound

on pineapple cell tissue structure during dehydration. **Journal of Food Engineering**, [S.L.], v. 90, n. 2, p. 186–190, 2009.

FERNANDES, F. A. N.; SANTOS, V. O.; RODRIGUES, S. Effects of glow plasma technology on some bioactive compounds of acerola juice. **Food Research International**, [S.L.], v. 115, n. February 2018, p. 16–22, 2019.

FERNÁNDEZ-GUTIERREZ, S. A.; PEDROW, P. D.; PITTS, M. J.; POWERS, J. R. Cold atmospheric-pressure plasmas applied to active packaging of apples. **IEEE Transactions on Plasma Science**, [S.L.], v. 38, n. 4 PART 4, p. 957–965, 2010.

FOLIN, O.; CIOCALTEAU, V. Tyrosine and Tryptophane in Proteins. **Journal of Biological Chemistry**, [S.L.], v. 73, n. 2, p. 627–648, 1927.

FONTELES, T. V.; COSTA, M. G. M.; JESUS, A. L. T.; MIRANDA, M. R. A.; FERNANDES, F. A. N.; RODRIGUES, S. Power ultrasound processing of cantaloupe melon juice : Effects on quality parameters. **FRIN**, [S.L.], v. 48, n. 1, p. 41–48, 2012.

GALLO, M.; FERRARA, L.; NAVIGLIO, D. Application of Ultrasound in Food Science and Technology: A Perspective. **Foods**, [S.L.], v. 7, n. 10, p. 164, 2018.

GÓMEZ-LÓPEZ, V. M.; RAGAERT, P.; DEBEVERE, J.; DEVLIEGHIERE, F. Pulsed light for food decontamination: a review. **Trends in Food Science and Technology**, [S.L.], v. 18, n. 9, p. 464–473, 2007.

GÓMEZ-LÓPEZ, V. M. Pulsed Light Technology. **Elsevier**, [S.L.], 2016.

GORDON, A.; CRUZ, A. P. G.; CABRAL, L. M. C.; FREITAS, S. C.; TAXI, C. M. A. D.; DONANGELO, C. M.; MATTIETTO, R. A.; FRIEDRICH, M.; MATTA, V. M.; MARX, F. Chemical characterization and evaluation of antioxidant properties of Açaí fruits (*Euterpe oleraceae* Mart.) during ripening. **Food Chemistry**, [S.L.], p. 256–263, 2012.

GRZEGORZEWSKI, F.; ROHN, S.; KROH, L. W.; GEYER, M.; SCHULTER, O. Surface morphology and chemical composition of lamb's lettuce (*Valerianella locusta*) after exposure to a low-pressure oxygen plasma. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 122, n. 4, p. 1145–1152, 2010.

HEINRICH, V.; ZUNABOVIC, M.; BERGMAIR, J.; KNEIFEL, W.; JAGER, H. Post-packaging application of pulsed light for microbial decontamination of solid foods: A review. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, [S.L.], v. 30, p. 145– 156, 2015.

HERCEG, Z.; KOVACEVIC, D. B.; KLJUSURIC, J. G.; JAMBRAK, A. R.; ZORIC, Z.; DRAGOVIC-UZELAC, V. Gas phase plasma impact on phenolic compounds in pomegranate juice. **Food Chemistry**, [S.L.], 2016.

HERCEG, Z.; KOVACEVIC, D. B.; KLJUSURIC, J. G.; JAMBRAK, A. R.; ZORIC, Z.; DRAGOVIC-UZELAC, V. Gas phase plasma impact on phenolic compounds in pomegranate juice. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 190, p. 665–672, 1 jan. 2016b.

HERTWIG, C.; MENESES, N.; MATHYS, A. Cold atmospheric pressure plasma and low energy electron beam as alternative nonthermal decontamination technologies for dry food

- surfaces: A review. **Trends in Food Science and Technology**, [S.L.], v. 77. October 2017, p. 131–142, 2018.
- HUANG, Y.; XIAO, D.; BURTON-FREEMAN, B. M.; EDIRISINGHE, I. Chemical Changes of Bioactive Phytochemicals during Thermal Processing. **Elsevier**, [S.L.], 2016.
- JAMBRAK, A. R. Non-thermal and Innovative Processing Technologies. **Encyclopedia of Food Security and Sustainability**, [S.L.], v. 1, p. 477–483, 2018.
- JESUS, A. L. T.; LEITE, T. S.; CRISTIANINI, M. High isostatic pressure and thermal processing of açai fruit (*Euterpe oleracea Martius*): Effect on pulp color and inactivation of peroxidase and polyphenol oxidase. **Food Research International**, [S.L.], v. 105, n. September 2017, p. 853–862, 2018.
- JOHN, D.; RAMASWAMY, H. S. Pulsed light technology to enhance food safety and quality: a mini-review. **Current Opinion in Food Science**, [S.L.], v. 23, p. 70–79, out. 2018.
- KANG, J. et al. Bioactivities of açai (*Euterpe precatoria Mart.*) fruit pulp, superior antioxidant and anti-inflammatory properties to *Euterpe oleracea Mart.* **Food Chemistry**, [S.L.], v. 133, n. 3, p. 671–677, 2012.
- KARAOGLAN, H. A.; KEKLIK, N. M.; DEVELI ISIKLI, N. Degradation kinetics of anthocyanin and physicochemical changes in fermented turnip juice exposed to pulsed UV light. **Journal of Food Science and Technology**, [S.L.], v. 56, n. 1, p. 30–39, 2019.
- KEENER, K.; BOURKE, P.; BOEHM, D.; CULLEN, P. J. The Potential of Cold Plasma for Safe and Sustainable Food Production. **Trends in Biotechnology**, [S.L.], v. 36, n. 6, p. 615–626, 2018.
- KOUTCHMA, T. Pulsed Light for Food and Beverages Preservation, Quality and Functionality. **Elsevier**, [S.L.], v. 1, 2017.
- KWAW, E. et al. Impact of ultrasonication and pulsed light treatments on phenolics concentration and antioxidant activities of lactic-acid-fermented mulberry juice. **LWT - Food Science and Technology**, [S.L.], v. 92, p.61–66, 2018.
- LACOMBE, A.; NIEMIRA, B. A.; GURTLER, J. B.; FAN, X.; SITES, J.; BOYD, G.; CHEN, H. Atmospheric cold plasma inactivation of aerobic microorganisms on blueberries and effects on quality attributes. **Food Microbiology**, [S.L.], v. 46, p. 479–484, 2015.
- LEE, J.; DURST, R. W.; WROLSTAD, R. E. Determination of Total Monomeric Anthocyanin Pigment Content of Fruit Juices, Beverages, Natural Colorants, and Wines by the pH Differential Method: Collaborative Study. **Food Research International**, [S.L.], v. 77, n. 1, p. 415–421, 2015.
- LI, H.; PORDESIMO, L.; WEISS, J. High intensity ultrasound-assisted extraction of oil from soybeans. **Food Research International**, [S.L.], v. 37, n. 7, p. 731–738, 2004.
- LISERRE, A. M.; RÉ, M. I.; FRANCO, B. D. G. M. Microencapsulation of *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* in modified alginate-chitosan beads and evaluation of survival in simulated

gastrointestinal conditions. **Food Biotechnology**, [S.L.], v. 21, n. 1, p. 1–16, 2007.

LUO, X.; CUI, J.; ZHANG, H.; DUAN, Y.; ZHANG, D.; CAI, M.; CHEN, G. Ultrasound assisted extraction of polyphenolic compounds from red sorghum (*Sorghum bicolor L.*) bran and their biological activities and polyphenolic compositions. **Industrial Crops and Products**, [S.L.], v. 112, n. 301, p. 296–304, 2017.

MAFTEI, N. A.; RAMOS-VALLARROEL, A. Y.; NICOLAU, A. I.; MARTÍN-BELLOSO, O.; SOLIVA-FORTUNY, R. Influence of processing parameters on the pulsed-light inactivation of *Penicillium expansum* in apple juice. **Food Control**, [S.L.], v. 41, n. 1, p. 27–31, 2014.

MAGALHÃES, M. L.; CARTAXO, S. J. M.; GALLÃO, M. I.; GARCÍA-PÉREZ, J. V. Drying intensification combining ultrasound pre-treatment and ultrasound-assisted air drying. **Journal of Food Engineering**, [S.L.], v. 215, p. 72–77, 2017.

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

MANDAL, R.; SINGH, A.; PRATAP SINGH, A. Recent developments in cold plasma decontamination technology in the food industry. **Trends in Food Science and Technology**, [S.L.], v. 80, n. November 2017, p. 93–103, 2018.

MANZOCCO, L.; PANOZZO, A.; NICOLI, M. C. Inactivation of polyphenoloxidase by pulsed light. **Journal of Food Science**, [S.L.], v. 78, n. 8, p. 1183–1187, 2013.

MAREČEK, V.; MIKYSKA, A.; HAMPEL, D.; CEJKA, P.; NEUWIRTHOVÁ, J.; MALACHOVÁ, A.; CERKAL, R. ABTS and DPPH methods as a tool for studying antioxidant capacity of spring barley and malt. **Journal of Cereal Science**, [S.L.], v. 73, p. 40–45, 2017.

MARQUES SILVA, F. V.; SULAIMAN, A. Polyphenoloxidase in Fruit and Vegetables: Inactivation by Thermal and Non-thermal Processes. **Elsevier**, v. 2, 2018.

MASON, T. The uses of ultrasound in food technology. **Ultrasonics Sonochemistry**, [S.L.], v. 3, n. 3, p. S253–S260, 1996.

MENEZES, E. M. DA S.; TORRES, A. T.; SABAA SRUR, A. U. Valor nutricional da polpa de açaí (*Euterpe oleracea Mart*) liofilizada. **Acta Amazonica**, [S.L.], v. 38, n. 2, p. 311–316, 2008.

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

MISRA, N. N.; YEPEZ, X.; XU, L.; KENNER, K. In-package cold plasma technologies. **Journal of Food Engineering**, [S.L.], v. 244, n. September 2018, p. 21–31, 2019.

MOHIDEEN, F. W.; SOLVAL, K. M.; LI, J.; ZHANG, J.; CHOULJENKO, A.; CHOTIKO, A.; PRUDENTE, A. D.; BANKSTON, J. D.; SATHIVEL, S. Effect of continuous ultra-sonication on microbial counts and physico-chemical properties of blueberry (*Vaccinium corymbosum*) juice. **LWT - Food Science and Technology**, [S.L.], v. 60, n. 1, p. 563–570, 2015.

MOREAU, M.; ORANGE, N.; FEUILLOLEY, M. G. J. Non-thermal plasma technologies : New tools for bio-decontamination. **Biotechnology Advances**, [S.L.], v. 26, p. 610–617, 2008.

MUHAMMAD, N.; UBAID, N.; QURESHI, T. M.; MUNIR, M.; MEHMOOD, A. Effect of ultrasound and chemical treatment on total phenol, flavonoids and antioxidant properties on carrot-grape juice blend during storage. **Ultrasonics Sonochemistry**, [S.L.], p. 1–6, 2018.

MUSIELAK, G.; MIERZWA, D.; KROEHNKE, J. Food drying enhancement by ultrasound – A review. **Trends in Food Science and Technology**, [S.L.], v. 56, p. 126–141, 2016.

ODRIOZOLA-SERRANO, I.; SOLIVA-FORTUNY, R.; MARTÍN-BELLOSO, O. Phenolic acids, flavonoids, vitamin C and antioxidant capacity of strawberry juices processed by high-intensity pulsed electric fields or heat treatments. **European Food Research and Technology**, [S.L.], v. 228, n. 2, p. 239–248, 31 dez. 2008.

OLIVEIRA, A. F. et al. Non-thermal combined treatments in the processing of açai (*Euterpe oleracea*) juice. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 265, n. April, p. 57–63, 2018.

OLIVEIRA, M. DO S. P. **Cultivo do Açazeiro para Produção de Fruto**. Disponível em: <https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/Producaodefrutos+Circ_tec_26_000gbz56rpu02wx5ok01dx9lcohm2bes.pdf>. Acesso em: 2 ago. 2018.

ORDÓÑEZ-SANTOS, L. E.; MARTÍNEZ-GIRÓN, J.; ARIAS-JARAMILLO, M. E. Effect of ultrasound treatment on visual color , vitamin C , total phenols , and carotenoids content in Cape gooseberry juice. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 233, p. 96–100, 2017.

PACHECO-PALENCIA, L. A.; DUNCAN, C. E.; TALCOTT, S. T. Phytochemical composition and thermal stability of two commercial açai species, *Euterpe oleracea* and *Euterpe precatoria*. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 115, n. 4, p. 1199–1205, ago. 2009.

PALA, D.; BARBOSA, P. O.; SILVA, C. T.; SOUZA, M. O.; FREITAS, F. R.; VOLP, A. C. P.; MARANHÃO, R. C.; FREITAS, R. N. Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) dietary intake affects plasma lipids, apolipoproteins, cholesteryl ester transfer to high-density lipoprotein and redox metabolism: A prospective study in women. **Clinical Nutrition**, [S.L.], p. 1–6, 2017.

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

PANKAJ, S. K.; BUENO-FERRER, C.; NEILL, L. O.; KUMAR, T. B.; BOURKE, P.; CULLEN, J. Characterization of Dielectric Barrier Discharge Atmospheric Air Plasma Treated Chitosan Films. **Journal of Food Processing and Preservation**, [S.L.], 2016.

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

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

PATARO, G.; SINIK, M.; CAPITOLI, M. M.; DONSI, G.; FERRARI, G. The influence of post-harvest UV-C and pulsed light treatments on quality and antioxidant properties of tomato fruits during storage. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, [S.L.], v. 30, p. 103–111, 2015a.

PATARO, G.; SINIK, M.; CAPITOLI, M. M.; DONSI, G.; FERRARI, G. The influence of post-harvest UV-C and pulsed light treatments on quality and antioxidant properties of tomato fruits during storage. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, [S.L.], v. 30, p. 103–111, 2015b.

PATRAS, A. Effect of thermal processing on anthocyanin stabil. **Trends in Food Science & Technology**, [S.L.], p. 3–11, 2010.

PELLICER, J. A.; GÓMEZ-LÓPEZ, V. M. Pulsed light inactivation of horseradish peroxidase and associated structural changes. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 237, p. 632–637, 2017.

PRIOR, R. L.; WU, X.; SCHAICH, K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [S.L.], v. 53, n. 10, p. 4290–4302, 2005.

PUTNIK, P.; BOSILJIKOV, T.; JAMBRAK, A. R.; BARBA, F. J.; LORENZO, J. M.; ROOHINEJAD, S.; GRANATO, D.; ZUNTAR, I.; KOVACEVIC, D. B. Comparing the effects of thermal and non-thermal technologies on pomegranate juice quality: A review. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 279, n. December 2018, p. 150–161, 2019.

RAWSON, A.; PATRAS, A.; TIWARI, B. K.; NOCI, F.; KOUTCHMA, T.; BRUMTON, N. Effect of thermal and non thermal processing technologies on the bioactive content. **Food Research International**, [S.L.], v. 44, 2011, p. 1875–1887, 2011.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant Activity Applying an Improved Abts Radical. **Free Radical Biology and Medicine**, [S.L.], v. 26, n. 98, p. 1231–1237, 1999.

REŽEK JAMBRAK, A.; SIMUNEK, M.; ZEKO, A.; HERCEG, Z.; VUKUSIC, T. Antioxidant, quality and electronic tongue sensory parameters of thermosonicated blueberry nectar. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, [S.L.], v. 44, p. 202–211, 2017.

RODRIGUES, C. C.; OLIVEIRA, M. S.; ARAÚJO, M. E.; RODRIGUES, A. M. C.; BOTELHO, J. R. S.; FILHO, A. P. S. S.; MACHADO, N. T.; JÚNIOR, R. N. C. Supercritical CO₂ extraction of açai (*Euterpe oleracea*) berry oil: Global yield, fatty acids, allelopathic activities, and determination of phenolic and anthocyanins total compounds in the residual pulp. **Journal of Supercritical Fluids**, [S.L.], v. 107, p. 364–369, 2015.

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

RODRÍGUEZ, Ó.; GOMES, W. F.; RODRIGUES, S.; FERNANDES, F. A. N. Effect of indirect cold plasma treatment on cashew apple juice (*Anacardium occidentale* L.). **LWT**, [S.L.], v. 84, p. 457–463, 1 out. 2017b.

ROGINSKY, V.; LISSI, E. A. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 92, n. 2, p. 235–254, 2005.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. **Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS +**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, v. 23, n. 2, p. 1–4, 2007.

SCHAUSS, A. G.; Wu, X.; PRIOR, R. L.; OU, B.; PATEL, D.; HUANG, D. Phytochemical and nutrient composition of the freeze-dried amazonian palm berry, *Euterpe oleraceae* Mart. (Acai). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [S.L.], v.54, n. 22, p. 8598–8603, 2006.

SELIMOVIĆ, A.; SALKIĆ, M.; SELIMOVIĆ, A. Direct Spectrophotometric Determination of L- Ascorbic acid in Pharmaceutical Preparations using Sodium Oxalate as a Stabilizer. **International Journal of Basic & Applied Sciences**, [S.L.], v. 11, n. April, p. 106–109, 2011.

SIDDIQUE, M. A. B.; MARESCA, P.; PATARO, G.; FERRARI, G. Influence of pulsed light treatment on the aggregation of whey protein isolate. **Food Research International**, [S.L.], v. 99, n. February, p. 419–425, 2017.

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

SOUSA, C. L.; MELO, G. M. C.; ALMEIDA, S. C. S. **Avaliação da qualidade do açaí (*Euterpe oleracea*, Mart.) comercializado na cidade de Macapá-AP**. B. Ceppa, v. 17, n. 2, p. 127–136, 1999.

SPAGNOL, C. M.; ASSIS, R. P.; BRUNETTI, I. L.; ISAAC, V. L. B.; SALGADO, H. R. N.; CORRÊA, M. A. In vitro methods to determine the antioxidant activity of caffeic acid. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, [S.L.], v. 219, p. 358–366, 2019.

SULLIVAN, J. O.; MURRAY, B.; FLYNN, C.; NORTON, I. Food Hydrocolloids The effect of ultrasound treatment on the structural, physical and emulsifying properties of dairy proteins. **Food hydrocolloids**, [S.L.], v. 42, p. 386–396, 2014.

SUROWSKY, B.; BUSSLER, S.; SCHLÜTER, O. Cold Plasma Interactions With Food Constituents in Liquid and Solid Food Matrices. **Cold Plasma in Food and Agriculture Fundamentals and Application**, [S.L.], p. 179–203.

SUROWSKY, B.; SCHLÜTER, O.; KNORR, D. Interactions of Non-Thermal Atmospheric Pressure Plasma with Solid and Liquid Food Systems: A Review. **Food Engineering Reviews**, [S.L.], v. 7, n. 2, p. 82–108, 2015.

SWAMY, G. J.; MUTHUKUMARAPPAN, K.; ASOKAPANDIAN, S. Ultrasound for Fruit Juice Preservation. In: Fruit Juices: Extraction, Composition, Quality and Analysis. **Elsevier Inc.**, [S.L.], p. 451–462, 2018.

- TEMBO, D. T.; HOLMES, M. J.; MARSHALL, L. J. Effect of thermal treatment and storage on bioactive compounds, organic acids and antioxidant activity of baobab fruit (*Adansonia digitata*) pulp from Malawi. **Journal of Food Composition and Analysis**, [S.L.], v. 58, p. 40–51, 2017.
- THIRUMDAS, R.; KADAM, D.; ANNAPURE, U. S. Cold Plasma: an Alternative Technology for the Starch Modification. **Food Biophysics**, [S.L.], v. 12, n. 1, p. 129–139, 2017.
- TIMMONS, C.; PAI, K.; JACOB, J.; ZHANG, G.; MA, L. M. Inactivation of *Salmonella enterica*, Shiga toxin-producing *Escherichia coli*, and *Listeria monocytogenes* by a novel surface discharge cold plasma design. **Food Control**, [S.L.], v. 84, p. 455–462, 2018.
- TSIKRIKA, K.; CHU, B.; BREMNER, D. H.; LEMOS, M. A. The effect of different frequencies of ultrasound on the activity of horseradish peroxidase. **LWT**, [S.L.], v. 89, p. 591–595, mar. 2018.
- URBAN, L.; CHABANE, S. D.; ORSAL, B.; LOPES, M.; MIRANDA, R.; AARROUF, J. UV-C light and pulsed light as alternatives to chemical and biological elicitors for stimulating plant natural defenses against fungal diseases. **Scientia Horticulturae**, [S.L.], v. 235, n. October 2017, p. 452–459, 2018.
- VALDIVIA-NÁJAR, C. G.; MARTÍN-BELLOSO, O.; SOLIVA-FORTUNY, R. Kinetics of the changes in the antioxidant potential of fresh-cut tomatoes as affected by pulsed light treatments and storage time. **Journal of Food Engineering**, [S.L.], v. 237, n. May, p. 146–153, 2018.
- WANG, J.; WANG, J.; YE, J.; VANGA, S. K.; RAGHAVAN, V. Influence of high-intensity ultrasound on bioactive compounds of strawberry juice: Profiles of ascorbic acid, phenolics, antioxidant activity and microstructure. **Food Control**, [S.L.], v. 96, n. September 2018, p. 128–136, 2019.
- WISSEMANN, K. W.; LEE, C. Y. Purification of grape polyphenoloxidase with hydrophobic chromatography. **Journal of Chromatography**, [S.L.], v. 192, n. C, p. 232–235, 1980.
- YAMAGUCHI, K. K. D. L.; PEREIRA, L. F. R.; LAMARÃO, C. V.; LIMA, E. S.; VEIGA-JUNIOR, V. F. Amazon acai: Chemistry and biological activities: A review. **Food Chemistry**, [S.L.], v.179,p. 137-151, 2015.
- ZHENG, L. Emerging Technologies for Food Processing. **Emerging Technologies for Food Processing**, [S.L.], p. 603–626, 2005.