

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA  
CENTRO DE TECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E  
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

JÉSSICA DAYANNE FERREIRA BATISTA

EFEITOS DO PLASMA FRIO NA QUALIDADE E NOS  
COMPOSTOS BIOATIVOS DA POLPA DE ABACATE (*Persea  
americana* Mill.)

JOÃO PESSOA - PB

2020

JÉSSICA DAYANNE FERREIRA BATISTA

EFEITOS DO PLASMA FRIO NA QUALIDADE E NOS  
COMPOSTOS BIOATIVOS DA POLPA DE ABACATE (*Persea  
americana* Mill.)

JOÃO PESSOA - PB

2020

JÉSSICA DAYANNE FERREIRA BATISTA

EFEITOS DO PLASMA FRIO NA QUALIDADE E NOS  
COMPOSTOS BIOATIVOS DA POLPA DE ABACATE (*Persea  
americana* Mill.)

Dissertação apresentada ao Programa de  
Pós-Graduação em Ciências e Tecnologia  
dos Alimentos, Centro de Tecnologia,  
Universidade Federal da Paraíba, em  
cumprimento aos requisitos para a  
obtenção do título de Mestre em Ciência e  
Tecnologia de Alimentos.

Orientador (a): Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Graciele da Silva Campelo Borges

JOÃO PESSOA - PB

2020

**Catálogo na publicação**  
**Seção de Catalogação e Classificação**

B333e Batista, Jéssica Dayanne Ferreira.

EFETOS DO PLASMA FRIO NA QUALIDADE E NOS COMPOSTOS  
BIOATIVOS DA POLPA DE ABACATE (*Persea americana* Mill.)  
/ Jéssica Dayanne Ferreira Batista. - João Pessoa,  
2020.

80 f.

Dissertação (Mestrado) - UFPB/CT/PPGCTA.

1. Abacate. Atividade antioxidante. Polifenoloxidase.  
I. Título

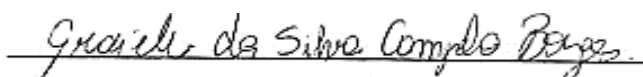
UFPB/BC

JÉSSICA DAYANNE FERREIRA BATISTA

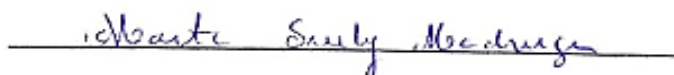
EFEITOS DO PLASMA FRIO NA QUALIDADE E NOS COMPOSTOS BIOATIVOS DA  
POLPA DE ABACATE (*Persea americana* Mill.)

Dissertação APROVADA em 27 / 03 / 2020.

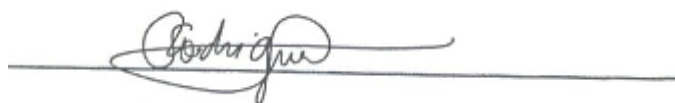
**BANCA EXAMINADORA**



**Prof. Dr. Graciele da Silva Campelo Borges – PPGCTA/CT/UFPB**  
**Presidente da Banca Examinadora**



**Prof. Dr. Marta Suely Madruga – PPGCTA/CT/UFPB**  
**Examinador Interno**



**Prof. Dr. Sueli Rodrigues – DEA/UFC**  
**Examinador Externo**

*Ao meu avô, o sábio homem  
analfabeto que incentivou e sonhou  
minha educação formal,*

**Dedico.**

## **AGRADECIMENTOS**

Ao meu Deus, por todo amor, misericórdia e por sempre guiar meus passos, nunca me permitindo desistir em meio a tantas frustrações.

À minha mãe, Diana, por todo apoio para que esta realização pessoal fosse possível. Ao meu PAIdrasto, Thiago, o qual deposita confiança demasiada na minha pessoa, sendo o primeiro da fila a aplaudir cada conquista.

Ao meu marido, Jordan, por toda paciência, amor e conforto.

À minha orientadora, Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Graciele Campelo, pela confiança, ensinamentos, amizade, dedicação e calma transmitida aos seus orientados mesmo em meio aos desafios que a pesquisa brasileira enfrenta.

Ao conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo apoio financeiro e incentivo ao desenvolvimento da ciência (133750/2018-3).

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela manutenção do Programa de Pós Graduação o qual participo - Código de Financiamento 001.

Ao Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

À banca examinadora, Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Sueli Rodrigues e Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Marta Madruga, as quais além das valiosas considerações, abriram as portas dos seus laboratórios para a realização de experimentos, contribuindo para a execução de parte desta dissertação.

Aos meus amigos de curso e de grupo de pesquisa por todos os momentos vividos, sejam esses de alegria ou de preocupações. Em especial à Jeniffer, Aline e Pollyana, as quais compartilharam muito deste trabalho comigo, pelo apoio, incentivo, companhia e amizade.

Aos técnicos dos laboratórios do CTDR e CT, pela preciosa contribuição, em especial à Natasha, Claudinha, Leila e Mércia por toda dedicação e compromisso.

A todos que fazem parte do CTDR, em especial a seu Marcos, por sempre estar disposto a ajudar os alunos do centro.

A todos, o meu muito obrigado!

## RESUMO

Nos últimos anos, o consumo do abacate (*Persea americana* Mill.) tem crescido exponencialmente, resultado do conhecimento de suas características nutricionais e compostos bioativos, como a alta concentração de ácidos graxos insaturados, destacando-se o ácido oléico, além de uma variedade de vitaminas (A, E, B e K) e minerais, tais quais o cálcio (Ca), magnésio (Mg) e fósforo (P), que juntos o torna um fruto com qualidades relevantes, responsáveis por inúmeros benefícios à saúde, com potencial antioxidante, antidiabético, anti-hiperlipidêmico, anti-obesidade, bactericida, antiviral e antiinflamatório. Embora a demanda pelo fruto e seus derivados venha se expandindo, o beneficiamento do abacate é um desafio enfrentado pela indústria alimentícia devido suas características intrínsecas como a elevada concentração de enzimas do tipo polifenoloxidase e peroxidase e, o alto conteúdo de lipídios, os quais proporcionam reações de degradação como o escurecimento enzimático e a rancidez oxidativa. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da tecnologia de plasma frio, através de um delineamento experimental inteiramente casualizado, variando o tempo (10, 20 e 30 min) e o fluxo de gás (10, 20 e 30 mL/min), em resposta na atividade enzimática da polifenoloxidase (PPO), na cor e no conteúdo de compostos bioativos na polpa de abacate. Duas polpas de abacate foram processadas, uma com adição 0,5% de extrato de limão (PACE) e outra sem adição do extrato de limão (PASE). O efeito do plasma sobre a enzima PPO presente nas polpas de abacate resultou em comportamentos distintos. Na PACE, maior redução da atividade enzimática foi verificada nos tratamentos T8 e T9 (20 mL/20 e 30min) que aplicaram maior fluxo de gás e os maiores tempos de processamento. Alterações nos parâmetros de cor de forma individual foram observadas, no entanto, não sendo perceptível mudanças na coloração a olho nu em alguns tratamentos, sobretudo, na PACE. Em relação ao conteúdo de compostos bioativos, na PASE o teor de fenólicos e carotenoides totais aumentaram nos tratamentos T1 e T2 (fluxo de gás 10 mL/10 e 30 min) ( $p < 0,05$ ) e, na PACE, os maiores valores foram encontrados nos T3 e T8 (fluxo de gás 30 mL/10 min e 20 mL/30 min) ( $p < 0,05$ ) contribuindo para alta atividade antioxidante nos ensaios de DPPH, ORAC-H e ORAC-L. O plasma frio não apresentou efeitos no conteúdo de ácidos graxos em nenhuma das polpas de abacate analisadas. Conclui-se que o efeito sinérgico do extrato de limão na polpa de abacate (PACE) junto com a tecnologia de plasma frio é eficiente para a manutenção da cor, redução da ação da polifenoloxidase e aumento do conteúdo de compostos bioativos.

**Palavras-chave:** Abacate. Ácido graxo. Atividade antioxidante. Polifenoloxidase. Tecnologia não térmica

## ABSTRACT

In recent years, consumption of avocado (*Persea americana* Mill.) has grown exponentially, as a knowledge of its nutritional characteristics and bioactive compounds, such as high concentration of unsaturated fatty acids, especially oleic acid, in addition to a variety of vitamins (A, E, B and K) and minerals such as calcium (Ca), magnesium (Mg) and phosphorus (P), which together make it be a fruit with relevant qualities, responsible for numerous health benefits, with potential antioxidant, antidiabetic, anti-hyperlipidemic, anti-obesity, bactericidal, antiviral and anti-inflammatory. Although the demand for the fruit and its derivatives has been expanding, the processing of avocado is a challenge faced by the food industry due to its intrinsic characteristics, such as high concentration of enzymes of polyphenoloxidase and peroxidase types and the high content of lipids, which provide reactions of degradation such as enzymatic browning and oxidative rancidity. Thus, the objective of this work was to evaluate the effect of cold plasma technology, through a completely randomized experimental design, in varying time (10, 20 and 30 min) and the gas flow (10, 20 and 30 mL / min ), in response to the enzymatic activity of polyphenoloxidase (PPO), the color and the content of bioactive compounds in the avocado pulp. Two avocado pulps were processed, one with the addition of 0.5% lemon extract (PACE) and the other without the addition of lemon extract (PASE). The effect of plasma on the PPO enzyme present in avocado pulps resulted in different behaviors. In PACE, a greater reduction in the enzyme activity was seen in treatments T8 and T9 (20 mL / 20 and 30 minutes) that applied greater gas flow and longer processing times. Changes in color parameters individually were also observed, however, with no noticeable changes in the coloration within the naked eye in some treatments, especially in PACE. Regarding the content of bioactive compounds, in PASE, the content of phenolic and total carotenoids increased in treatments T1 and T2 (gas flow 10 mL / 10 and 30 min) ( $p < 0.05$ ) and, in PACE, the highest values were found in T3 and T8 (gas flow 30 mL/10 min and 20 mL/30 min) ( $p < 0.05$ ) contributing to high antioxidant activity in DPPH, ORAC-H and ORAC-L assays. Cold plasma had no effect on fatty acid content in any of the analyzed avocado pulps. We conclude that the synergistic effect of lemon extract on avocado pulp (PACE) together with cold plasma technology is efficient for maintaining color, reducing the action of polyphenoloxidase and increasing the content of bioactive compounds.

**Key words:** Avocado. Fatty acid. Antioxidant activity. Polyphenoloxidase. Non-thermal technology

## LISTA DE FIGURAS

|                                                                                                          |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 1</b> Representações dos quatro estados da matéria.....                                        | 23 |
| <b>Figura 2</b> Uma visão geral das aplicações do plasma em várias áreas da ciência e da tecnologia..... | 24 |
| <b>Figura 3</b> Fluxograma de processamento da polpa de abacate.....                                     | 30 |
| <b>Figura 4</b> Equipamento de Plasma frio de descarga luminescente.....                                 | 31 |
| <b>Figura 5</b> Ilustração do Espaço de cor.....                                                         | 32 |

## ARTIGO

|                                                                                                                                              |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 1</b> Atividade relativa da polifenoloxidase presente na polpa de abacate PACE e PASE submetidas a tratamento com plasma frio..... | 60 |
| <b>Figura 2</b> Coloração da polpa de abacate após tratamento com plasma frio.....                                                           | 65 |

## LISTA DE TABELAS

|                                                                                                  |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabela 1</b> Composição Nutricional da polpa de abacate ( <i>Persea americana</i> Mill.)..... | 17 |
| <b>Tabela 2</b> Perfil de ácidos graxos presente no óleo de abacate.....                         | 19 |
| <b>Tabela 3</b> Delineamento experimental com processamento em plasma frio.....                  | 30 |

## ARTIGO

|                                                                                                                                    |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabela 1</b> Delineamento experimental de tratamento com plasma frio aplicado em polpa de abacate.....                          | 53 |
| <b>Tabela 2</b> pH da polpa de abacate após tratamento com plasma frio.....                                                        | 61 |
| <b>Tabela 3</b> Parâmetros instrumentais de cor e índice de escurecimento da polpa de abacate após tratamento com plasma frio..... | 63 |
| <b>Tabela 4</b> Compostos bioativos na polpa de abacate após tratamento com plasma frio.....                                       | 66 |
| <b>Tabela 5</b> Atividade antioxidante da polpa de abacate após tratamento com plasma frio.....                                    | 69 |
| <b>Tabela 6</b> Perfil de ácidos graxos da polpa de abacate após tratamento com plasma.....                                        | 73 |

## LISTA DE EQUAÇÕES

|                                                     |    |
|-----------------------------------------------------|----|
| <b>Equação 1</b> Croma.....                         | 32 |
| <b>Equação 2</b> Ângulo da matiz.....               | 32 |
| <b>Equação 3</b> Diferença total da cor.....        | 33 |
| <b>Equação 4</b> Índice de escurecimento.....       | 33 |
| <b>Equação 5</b> Atividade enzimática relativa..... | 34 |
| <b>Equação 6</b> Clorofila a.....                   | 37 |
| <b>Equação 7</b> Clorofila b.....                   | 37 |
| <b>Equação 8</b> Carotenoides totais.....           | 37 |

## ARTIGO

|                                               |    |
|-----------------------------------------------|----|
| <b>Equação 1</b> Croma.....                   | 54 |
| <b>Equação 2</b> Ângulo da matiz.....         | 54 |
| <b>Equação 3</b> Diferença total da cor.....  | 54 |
| <b>Equação 4</b> Índice de escurecimento..... | 54 |
| <b>Equação 5</b> Atividade relativa.....      | 55 |
| <b>Equação 6</b> Clorofila a.....             | 58 |
| <b>Equação 7</b> Clorofila b.....             | 58 |
| <b>Equação 8</b> Corotenoides totais.....     | 58 |

## SUMÁRIO

|                                                                                                                                    |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>1 INTRODUÇÃO</b>                                                                                                                | 14 |
| <b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b>                                                                                                     | 16 |
| 2.1 ABACATE: UMA FONTE DE NUTRIENTES E COMPOSTOS BIOATIVOS                                                                         | 16 |
| 2.1.1 Aspectos botânicos e morfológicos                                                                                            | 16 |
| 2.1.2 Características nutricionais                                                                                                 | 17 |
| 2.1.3 Exploração comercial do abacate                                                                                              | 20 |
| 2.2 TECNOLOGIAS NÃO TÉRMICAS E SEUS EFEITOS NA CONSERVAÇÃO DE ALIMENTOS                                                            | 21 |
| 2.2.1 Tecnologia de Plasma                                                                                                         | 22 |
| 2.2.2 Efeitos da aplicação do plasma frio nos alimentos                                                                            | 25 |
| <b>3 ABORDAGEM METODOLÓGICA</b>                                                                                                    | 29 |
| 3.1 MATÉRIA - PRIMA                                                                                                                | 29 |
| 3.2 LOCAL DE EXECUÇÃO                                                                                                              | 29 |
| 3.3 PROCESSAMENTO DA POLPA DE ABACATE                                                                                              | 29 |
| 3.4 ANÁLISE DE COR                                                                                                                 | 31 |
| 3.5 POTENCIAL HIDROGENIÔNICO (pH)                                                                                                  | 33 |
| 3.6 ATIVIDADE DA POLIFENOLOXIDASE                                                                                                  | 33 |
| 3.7 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE                                                                                                         | 34 |
| 3.7.1 Extração da fração lipídica e hidrofílica                                                                                    | 34 |
| 3.7.2 Capacidade de sequestro do DPPH•                                                                                             | 35 |
| 3.7.3 Capacidade de absorção dos radicais oxigenados (ORAC)                                                                        | 35 |
| 3.7.3.1 ORAC – H – Fração Hidrofílica                                                                                              | 35 |
| 3.7.3.2 ORAC -L – Fração Lipofílica                                                                                                | 35 |
| 3.8 FENÓLICOS TOTAIS                                                                                                               | 36 |
| 3.9 CAROTENOIDES TOTAIS                                                                                                            | 36 |
| 3.10 PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS                                                                                                       | 37 |
| 3.10.1 Extração lipídica                                                                                                           | 37 |
| 3.10.2 Esterificação                                                                                                               | 38 |
| 3.11 ANÁLISE ESTATÍSTICA                                                                                                           | 39 |
| <b>REFERÊNCIAS</b>                                                                                                                 | 40 |
| <b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>                                                                                                    | 48 |
| ARTIGO: Efeitos do plasma frio na polpa de abacate ( <i>Persea americana</i> Mill): características químicas e compostos bioativos | 48 |
| <b>5 CONCLUSÃO</b>                                                                                                                 | 80 |

## 1 INTRODUÇÃO

O abacate (*Persea americana* Mill.) é um fruto do tipo drupa com aproximadamente 68% de polpa comestível, das quais 14,6% são lipídios, constituídos majoritariamente de ácidos graxos insaturados, como o ácido oléico e linoléico, além de vitaminas A, B, K e E e, minerais como cálcio, magnésio, fósforo e potássio (FERNÁNDEZ et al., 2018).

Devido a essas propriedades nutricionais, a demanda mundial na comercialização e consumo do abacate vem aumentando nos últimos anos (ARAUJO et al., 2018). Em 2018, o Brasil produziu aproximadamente 235.788 toneladas de fruto, a Região Sudeste foi responsável por 85% dessa produção, com o maior produtor o Estado de São Paulo com 65%. O Nordeste, situa-se na terceira posição do ranking com 2,6% da produção, os Estados da Bahia e do Ceará são os seus principais representantes (IBGE 2019).

Embora os números mostrem um aumento no seu cultivo, sua comercialização é dificultada por ser um fruto climatérico com elevada concentração de enzimas e pelo seu alto teor de lipídio, os quais juntos, modificam negativamente as características nutricionais e sensoriais, como sabor, cor e aroma durante o período de armazenamento. Diante deste cenário, a agroindustrialização do abacate é um problema enfrentado devido as reações de escurecimento enzimático e rancidez oxidativa (DANTAS et al., 2018).

A polifenoloxidase (PPO) é a enzima responsável pelo escurecimento dos tecidos do abacate, por provocar a aceleração de reações oxidativas que produzem pigmentos escuros. A forma de atuação da PPO no abacate é mais intensa e resistente aos tratamentos térmicos quando comparado sua presença em outras frutas, motivo pelo qual a PPO encontra condição propícias para sua ação, devido a alta concentração de compostos fenólicos e pH não ácido (6,27 - 6,58) (TOLEDO & AGUIRRE, 2016; FUENTES et al., 2018).

Apesar de que exista um entrave na comercialização do abacate, a indústria de alimentos tem pesquisado novas formas de consumo para propor um maior valor agregado ao fruto do abacateiro, assim como métodos mais eficientes de conservação que possam manter ou melhorar as suas qualidades sensoriais e nutricionais. O estudo dos efeitos de tecnologias de conservação do fruto e de seus subprodutos permitirão o aumento e facilitação do seu consumo (CÁBIA & VIEITES, 2013; DANTAS et al., 2018).

Nesse contexto, juntamente com as tendências atuais na alimentação da população com critérios mais exigentes frente ao que consome - em busca de alimentos mais saudáveis, menos processados e livres de conservantes químicos - as indústrias alimentícias têm sido impulsionadas a respeitarem e se preocuparem com essa demanda, para que possam participar

de forma efetiva em um mundo cada vez mais competitivo. Para isso, às tecnologias não térmicas vêm sendo avaliadas para atender aos requisitos das novas diretrizes na produção de alimentos (JAMBRAK, 2018).

Dentre as tecnologias não térmicas, o plasma frio é uma tecnologia emergente, inovadora, de baixo custo, ecológica e versátil devido suas diversas aplicações dentro e fora da indústria de alimentos. Logo, a aplicação desta consiste na redução da degradação de compostos termossensíveis, como as vitaminas e compostos com capacidade antioxidante (COUTINHO et al., 2018; PANKAJ, WAN & KEENER, 2018; THIRUMDAS & ANNAPURE, 2020).

Estudos evidenciam que o efeito do plasma na atividade enzimática através da geração de espécies reativas impedem as enzimas de atuarem nos substratos e/ou em coenzimas de ligação com uma subsequente catálise, principalmente devido a alterações conformacionais em torno do seu centro ativo (MISRA, 2015; RODACKA et al., 2016; THIRUMDAS & ANNAPURE, 2020).

O uso da tecnologias não térmicas em polpa de fruta visa a conservação do produto, contribuindo também para o aumento de compostos bioativos, uma vez que o processamento com plasma potencializa a concentração desses compostos por provocar um desencadeamento de uma série de modificações na matriz celular, como a ruptura da célula, a qual acarreta maior liberação dos bioativos, facilitando sua extração (KOVACEVIC et al., 2016).

No entanto, é fundamental mais estudos na avaliação dos impactos do plasma frio em diferentes matrizes alimentares, para que também seja possível uma otimização dos parâmetros de processo, potencializando implementações futuras da tecnologia (PANKAJ, WAN & KEENER, 2018).

Neste contexto, a proposta da pesquisa considera a necessidade da agroindústria brasileira de tecnologias de conservação avaliar eficientes técnicas aplicadas ao processamento do abacate, a fim de evitar o escurecimento e manter as características sensoriais e nutricionais.

Assim, essa dissertação objetivou avaliar os efeitos do plasma frio nos parâmetros de qualidade e compostos bioativos da polpa de abacate (*Persea americana* Mill.) adicionada de extrato de limão, a qual foi obtida em estudos preliminares seguindo o fluxograma de processo descrito no pedido de invenção BR 10 2017 025357 0 e, na polpa de abacate sem adição de extrato de limão.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 ABACATE: UMA FONTE DE NUTRIENTES E COMPOSTOS BIOATIVOS

#### 2.1.1 Aspectos botânicos e morfológicos

O abacate (*Persea americana* Mill.) é um fruto típico de climas tropicais e subtropicais, o qual pertencente à família *Lauraceae* e ao gênero *Persea*, sendo a *Persea americana* o membro mais relevante e estudado desse gênero (FERNÁNDEZ, GUITIÉ & PANCORBO, 2018).

O abacateiro é uma árvore perene e se destaca por um crescimento em altura e forma de propagação muito rápida, podendo atingir alturas de até 20 metros. Embora as árvores produzam grandes quantidades de flores, geralmente menos de 0,1% dessas flores dão frutos (CARR, 2013).

Um fruto do tipo drupa, o exocarpo do abacate é grosso, quebradiço ou delgado, dispondo de uma coloração verde-oliva e brilhante; seu mesocarpo é carnoso, cremoso e espesso com um pigmento creme-amarelado. Já o caroço, é recoberto pelo envoltório coriáceo, o qual envolve os cotilédones e, por fim, o pedúnculo que se encontra no centro ou na lateral do fruto por uma parte denominada pedicelo (MARCIEL, 2008; COWAN & WOLSTENHOLME, 2016).

O abacate é classificado botanicamente em três grupos ou em três raças ecológicas diferentes: Mexicana, Guatemalense e a Antilhana, as quais apresentam suas próprias condições de cultivo e características físicas (COWAN & WOLSTENHOLME, 2016). Com o resultado do cruzamento dessas raças, ocorre a formação das diversas variedades cultivadas em todo o mundo, tais como *Quintal*, *Simmonds*, *Breda*, *Fortuna*, *Hass* (Avocado), *Ouro Verde*, *Geada*, *Margarida* e outras (FAO, 2017).

O fruto abacate é naturalmente encontrado em climas subtropicais, desta forma, consegue se adaptar bem em climas tropicais. Para este, diversos fatores ecológicos podem afetar o seu adequado desenvolvimento e, dentre os mais importantes estão a temperatura, estresse hídrico, vento e salinidade. No entanto, o crescimento dos frutos também é influenciado pelas variáveis da cultivar e do manejo da prática cultural (COWAN & WOLSTENHOLME, 2016).

### 2.1.2 Características nutricionais

O abacate é uma matriz complexa e completa, formada por uma grande variedade de nutrientes que se destacam em relação à maioria das frutas tropicais já existentes (Tabela 1) (FERNÁNDEZ, GUITIÉ & PANCORBO, 2018).

**Tabela 1** Composição Nutricional da polpa de abacate (*Persea americana* Mill.)

|                               |                                   |          |
|-------------------------------|-----------------------------------|----------|
| <b>Composição nutricional</b> | Calorias                          | 160 kcal |
|                               | Água                              | 73,23 g  |
|                               | Proteína                          | 2,00 g   |
|                               | Lipídios totais                   | 14,66 g  |
|                               | Carboidratos                      | 8,53 g   |
|                               | Fibras totais                     | 6,70 g   |
|                               | Cinzas                            | 1,66 g   |
| <b>Vitaminas</b>              | Vitamina C                        | 10,00 mg |
|                               | Tiamina (B1)                      | 0,07 mg  |
|                               | Riboflavina (B2)                  | 0,13 mg  |
|                               | Niacina (B3)                      | 1,74 mg  |
|                               | Piridoxina (B6)                   | 0,26 mg  |
|                               | Folato                            | 89 µg    |
|                               | Vitamina A                        | 7 µg     |
|                               | Vitamina E ( $\alpha$ -tocoferol) | 2,07 mg  |
|                               | Vitamina K (filoquinona)          | 21 µg    |
| <b>Minerais</b>               | Cálcio (Ca)                       | 12 mg    |
|                               | Ferro (Fe)                        | 0,55 mg  |
|                               | Magnésio (Mg)                     | 29 mg    |
|                               | Fosforo (P)                       | 52 mg    |
|                               | Potássio (K)                      | 485 mg   |
|                               | Sódio (Na)                        | 7 mg     |

|                 |                          |         |
|-----------------|--------------------------|---------|
|                 | Zinco (Zn)               | 0,64 mg |
|                 | Ác. graxo monoinsaturado | 9,8 g   |
|                 | Ác. graxo saturado       | 2,13 g  |
|                 | Ác. graxo poliinsaturado | 1,82 g  |
| <b>Lipídios</b> | Colesterol               | 0 mg    |
|                 | Estigmasterol            | 2 mg    |
|                 | Campesterol              | 5 mg    |
|                 | Beta-sitosterol          | 76 mg   |

Valores expressos para 100g de polpa.  
Fonte: USDA (2011), com adaptações.

A polpa de abacate apresenta um teor de umidade que varia de 67 a 78%; quantidade de fibras de 1,4 a 3,0%, as quais são dependentes de acordo com a sua solubilidade onde, 70% correspondem as fibras insolúveis e 30% as fibras solúveis e, seu teor de cinzas de 0,8 a 1,5%. (COWAN & WOLSTENHOLME, 2016).

Os açúcares existentes no abacate variam numa concentração de 0,8 a 4,8%, predominando a sacarose e carboidratos contendo 6 carbonos, tais como os pigmentos, taninos e polifenóis. Já a respeito dos minerais, os encontrados em maior abundância são cálcio, ferro, magnésio, fósforo, potássio, sódio, zinco, cobre, manganês e selênio (COWAN & WOLSTENHOLME, 2016; DREHER & DAVENPORT, 2013).

O abacate possui uma diversidade significativa de vitaminas e dentre elas as que mais se destacam são a vitamina A, do complexo B (B1, B2, B3, B5, B6, B12, folato e colina), vitamina C, vitamina E ( $\alpha$ -tocoferol,  $\beta$ -tocoferol,  $\gamma$ -tocoferol,  $\delta$ -tocoferol) e as vitaminas K1 e D (DREHER & DAVENPORT, 2013).

Com relação ao conteúdo de lipídios, o abacate expõe valores de 12 a 24%. A fração lipídica (14,66 g/ 100g) presente no fruto pode ser dividida em 4 porções distintas: os triglicerídeos que representam 96% do conteúdo lipídico total do abacate, as frações de fosfolipídios, os glicolipídios e ácidos graxos livres (COWAN & WOLSTENHOLME, 2016).

Os principais ácidos graxos encontrados (Tabela 2) são o ácido oléico (59 a 81%), ácido palmítico (7 a 22%), ácido linoléico (7 a 14%) e ácido palmitoléico (3 a 11%) (COWAN & WOLSTENHOLME, 2016). Outros ácidos graxos também importantes são encontrados,

porém, em menores concentrações (1,30 %), como o ácido linolênico (SANTOS et al., 2014; DREHER & DAVENPORT, 2013; CICERO et al., 2018).

**Tabela 2** – Perfil de ácidos graxos presente no óleo de abacate

| Ácido graxo          | Concentração % |
|----------------------|----------------|
| Ácido tetradecanóico | 0,01           |
| Ácido palmítico      | 14,21          |
| Ácido palmitoléico   | 7,06           |
| Ácido margárico      | 0,01           |
| Ácido margaroléico   | 0,08           |
| Ácido estéarico      | 2,15           |
| Ácido oléico         | 59,46          |
| Ácido linoléico      | 14,66          |
| Ácido linolênico     | 1,30           |
| Ácido araquidônio    | 0,41           |
| Ácido gadoléico      | 0,51           |
| Ácido behênico       | 0,08           |
| Ácido lignocêrico    | 0,06           |

Fonte: CICERO et al. (2018), com adaptações.

A fração lipídica do abacate tem grande relevância e importância nutricional e sua quantidade de ácidos graxos, sobretudo os ácidos graxos essenciais, como os ácidos linoléico e linolênico são valorosos visto que o corpo humano não é capaz de produzi-los (COELHO, FERNANDES & MELLADO, 2019). Nesta fração, o abacate também oferece quantidades substanciais de compostos como os fitoesteróis dentre eles o campesterol, estigmasterol,  $\beta$ -sitostanol, campestanol, estigmastanol e, principalmente, o  $\beta$ -sitosterol (DREHER & DAVENPORT, 2013; SANTOS et al, 2014).

No abacate, uma ótima fonte de bioativos além dos ácidos graxos são os carotenoides, os minerais, clorofilas, compostos fenólicos e também, as vitaminas (TABESHPOUR, RAZAVI & HOSSEINZADEH, 2017). Os carotenoides que predominam no abacate são as xantofilas, luteína e criptoxantina, contribuindo com cerca de 90% dos carotenoides totais

(COWAN & WOLSTENHOLME, 2016) e, devido a concentração desses compostos, o abacate tem a maior capacidade antioxidante total lipofílica dentre as frutas e vegetais (LINTING & BABINO, 2020).

Com relação aos compostos fenólicos e polifenólicos presentes no abacate, os que são encontrados em maior concentração são os ácidos fenólicos (ácidos hidroxibenzóico e hidrocinâmico), flavonóides (rutina), estilbenos (resveratrol), cumarinas e taninos (ácido tânico) (RODRÍGUEZ et al., 2011), os quais também possuem atividade antioxidante devido a sua estrutura química com propriedades redox por transferência de elétrons, eliminação de átomos de hidrogênio ou íons metálicos em relação ao grupo carboxila antioxidante (OJHA et al., 2018).

### 2.1.3 Exploração comercial do abacate

O abacate é um fruto cultivado em todo mundo por ser facilmente adaptável a vários tipos de solo e clima (FAO, 2018). A progressão dessa produção decorrente de uma maior demanda no consumo do abacate está correlacionada as suas características sensoriais e, principalmente, devido ao conhecimento do seu valor nutricional (ARAÚJO et al., 2018).

Em geral, os países que produzem a maior quantidade de abacate são também seus consumidores mais efetivos. Mundialmente, dez países se destacam, os quais juntos, são responsáveis por cerca de 75,5% da produção total, sendo o México, República Dominicana, Colômbia, Peru, Indonésia, Quênia, Estados Unidos, Chile, Brasil e Ruanda (VALE, 2017).

O abacate tem ampliado sua importância no setor da fruticultura brasileira, mesmo que ainda não se inclua entre as espécies de maior impacto econômico (CARVALHO, 2017). No Brasil, o abacate pode ser cultivado em todas as regiões, destacando-se a maior produção no Sudeste, com a efetiva participação dos estados de São Paulo e Minas Gerais. Os Estados do Paraná e Rio Grande do Sul, representam o Sul do país na produção, no Nordeste, a Bahia e o Ceará têm se mostrado regiões promissoras no cultivo desse fruto (AGRIANUAL, 2017).

Os cultivares de abacate comercializados no Brasil são classificados em tipos de consumo e exportação. Para o consumo doméstico e utilização em pequenos estabelecimentos de alimentação, os preferidos são os frutos maiores, como o *Breda* e o *Quintal*. No entanto, essa perspectiva de consumo vem sofrendo modificações, uma vez que as variedades mais

consumidas no exterior como as *Fuerte* e, principalmente, a *Hass* ou popularmente conhecida como Avocado, têm sido amplamente valorizadas (SCHAFFER et al., 2013).

O consumo do fruto na Europa, México e Estados Unidos se faz na adição do abacate em saladas, sopas, patês e pastas, como também fazendo parte do preparo de pratos mais sofisticados e caros. Já no Brasil, a aplicação do fruto se baseia na forma de sobremesas, vitamina ou batida com leite, açúcar e limão; como ingrediente na fabricação de sorvetes ou, até mesmo o consumo da fruta apenas com adição de açúcar (DAIUTO et al., 2010).

No entanto, o desenvolvimento de produtos de abacate na forma processada apresenta um dos obstáculos ainda enfrentados pela indústria de alimentos, isso devido a alterações na sua coloração, uma vez que a polpa do fruto é altamente sensível ao escurecimento enzimático, e também, pela auto-oxidação lipídica devido à alta concentração de enzimas e por ser um fruto rico em ácidos graxos insaturados, ocasionando modificações de sabor e aroma (DAIUTO et al., 2011; DANTAS et al., 2018).

Hoje, mesmo com os obstáculos citados acima, já é possível encontrar tipos de produtos derivados do abacate, dos quais o de maior interesse industrial derivam da sua polpa, como bebidas refrescantes, o guacamole e, produtos congelados (SANTOS et al., 2014). A polpa de abacate também é uma ótima alternativa e vem sendo estudada para ampliar a comercialização desse fruto e melhorar a praticidade de seu consumo e armazenamento (BATISTA, 2017).

## 2.2 TECNOLOGIAS NÃO TÉRMICAS E SEUS EFEITOS NA CONSERVAÇÃO DE ALIMENTOS

O consumidor tem se tornado mais consciente sobre a qualidade, segurança, nutrição e aspectos sensoriais dos alimentos, demandando produtos que apresentem categorias de prazer, praticidade, bem-estar, confiabilidade, sustentabilidade e ética, pois também estão cientes dos impactos ambientais associados às práticas agrícolas e de produção de alimentos. Nesse contexto, um aumento no número de pesquisas de técnicas mínimas de preservação vêm sendo realizadas e as tecnologias não térmicas podem responder aos requisitos das novas diretrizes na produção de alimentos (JAMBRAK, 2018; PEDROUSO et al., 2019).

As tecnologias não térmicas são processos que não envolvem a geração de calor, mas podem causar uma modificação na temperatura existente no interior de um produto o qual se

aplica a tecnologia, ou seja, são processos pelos quais independem da temperatura da fonte de energia (ONWUDE et al., 2017).

No âmbito da tecnologia de alimentos pesquisadores estudam como as técnicas não térmicas podem sobrepor os processos padrões de conservação, como a pasteurização e esterilização e, ainda assim, atender ao mercado consumidor em relação aos padrões sensoriais e nutricionais do alimento. O grande propósito dessas tecnologias é facilitar o processamento, tornando-o mais econômico, prático, rápido e sustentável (JAMBRAK, 2018).

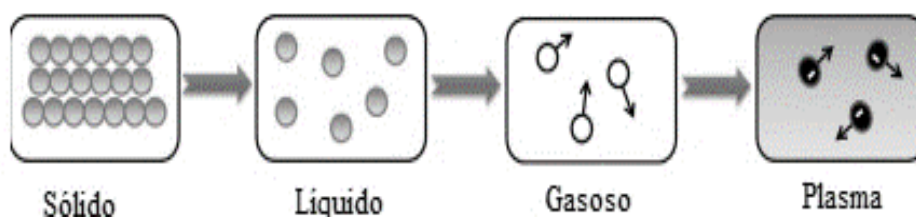
As técnicas de processamento não térmico incluem a luz UV, cavitação hidrodinâmica, processamento eletrohidrodinâmico, processamento de feixes de elétrons, ozonização, campos magnéticos oscilantes, plasma, processamento de fluido supercrítico, biopreservação, radiação ionizante, luz pulsada, eletrotecnologias, processamento e homogeneização empregando alta pressão e outros (PRAKASH, 2013; BARBA et al., 2017).

A aplicação dessas tecnologias vêm sendo testadas em inúmeras matrizes alimentares, particularmente em produtos a base de frutas, leite, alimentos protéicos e lipídicos. Investigações também sobre atividade enzimática, propriedades reológicas, pigmentos, características sensoriais e qualidade microbiológica estão sendo realizadas (JAMBRAK, 2018; MEHTA et al., 2019).

Dentre essas técnicas emergentes de processamento não térmico, a tecnologia de plasma frio vem se destacando e atraindo muitos olhares de pesquisadores, devido não só aos efeitos nos produtos alimentares, mas também devido a diversidade de suas características de processo como o tempo, fluxo de gás, pressão e possíveis diferentes gases utilizados para sua geração (CHOI et al., 2017; PANKAJ, WAN & KEENER, 2018).

### **2.2.1 Tecnologia de Plasma**

O plasma é definido como um gás totalmente ou parcialmente ionizado, é o quarto estado da matéria ao lado dos sólidos, líquidos e gases convencionais (Figura 1), encontrado em uma variedade de espécies iônicas, moleculares, atômicas e radicais excitadas. O plasma é gerado por qualquer tipo de energia capaz de ionizar gases, tais como a térmica, a óptica (UV), a radiação elétrica, radioativa e a eletromagnética de raio-X (MISRA et al., 2017).

**Figura 1** - Representações dos quatro estados da matéria

Fonte: MISRA, SCHLUTER & CULLEN (2016), com modificações.

A tecnologia de plasma pode ser classificada em dois grupos, plasma térmico e plasma de baixa temperatura, os quais são induzidos por temperaturas e pressões variadas, dando energia a um gás neutro. Para sua propagação, o plasma térmico necessita de níveis extremos de pressão e potência, o qual também se distingue por requerer um equilíbrio térmico entre elétrons e outras espécies mais pesadas e, essas, necessitarem de uma mesma temperatura (SCHOLTZ et al., 2015).

Já o plasma de baixa temperatura é subdividido em plasma de quase desequilíbrio, que possui um estado de equilíbrio térmico local e o plasma não térmico, o qual é produzido em baixos níveis de pressão e potência, sem um equilíbrio termodinâmico localizado, portanto designado como plasma sem equilíbrio ou como plasma frio (SCHOLTZ et al., 2015; MISRA et al., 2016).

No plasma frio, as espécies neutras desempenham um papel mais importante do que a química das espécies ionizadas, entretanto, os elétrons e suas colisões produzidas nessa tecnologia não térmica, são os responsáveis por criarem um ambiente de espécies reativas as quais determinam a sua química (WHITEHEAD, 2016).

O plasma apresenta efeitos diversos de acordo com as variáveis utilizadas para sua geração, bem como o seu processamento, os quais dependem da pressão, tensão, tempo de tratamento e tipo de gás. No caso da pressão, a quantidade disponível das partículas de gás para ionização é menor quando aplicada uma baixa pressão e, em altas pressões, os elétrons não conseguem captar energia para a ionização devido a alta frequência de colisões (BÁRDOS & BARÁNKOÁ, 2010). Já à tensão, quando essa é aumentada, a energia distribuída para o plasma é maior e ocorre uma propagação de espécies plasmáticas (ZIUZINA et al., 2013).

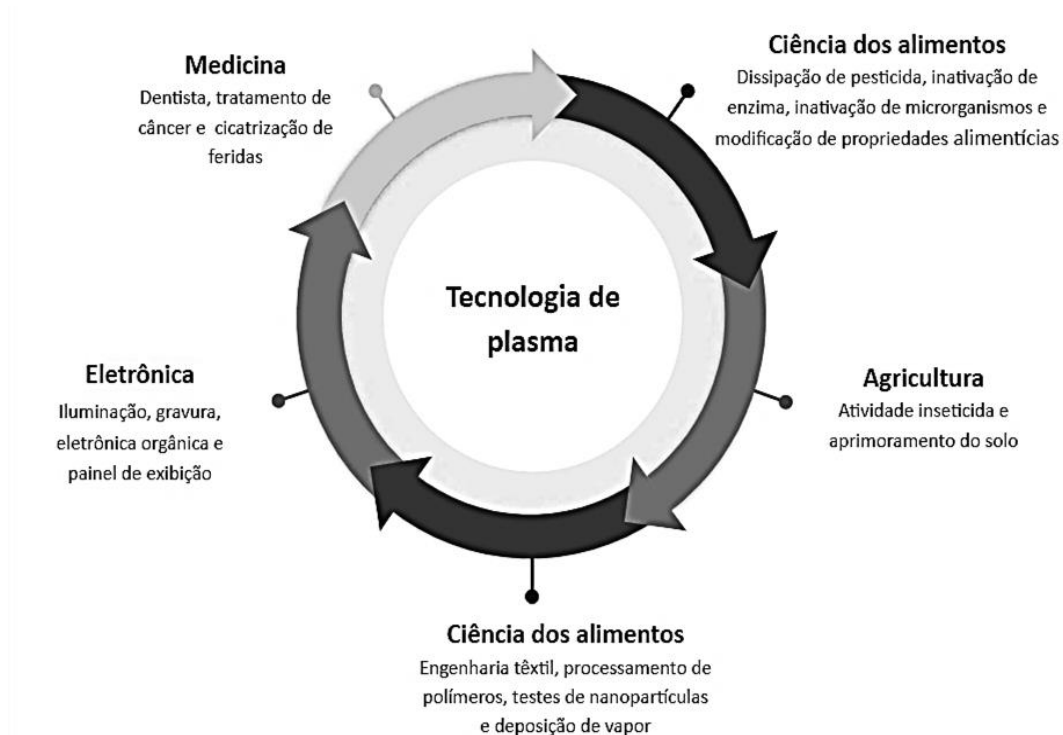
Quanto ao tempo, aumentar o período de aplicação dessa tecnologia, amplia também as espécies reativas, resultando em uma intensidade de efeitos causados ao alimento sob a técnica (MISRA et al., 2014). E por último, o principal responsável pelos impactos do plasma,

o tipo de gás utilizado, sendo o mais complexo, uma vez que consiste no envolvimento de muitas reações, resultante do trabalho de muitas espécies de gases (KEENER & MISRA, 2016).

Além das variáveis de processo, outros fatores influenciam a efetividade do plasma frio, como os parâmetros intrínsecos da matriz, tais como a umidade relativa, pH e natureza da matriz. As matrizes de alimentos sólidos e líquidos interagem de maneira diferente com as espécies reativas e, produtos com pH mais baixo, por exemplo, reagem de forma distinta ao estresse, calor e diversas outras condições (MURANYI, WUNDERLICH & HEISE, 2008; EKEZIE, SUN & CHENG, 2017).

A tecnologia de plasma frio já era bastante difundida em outras áreas da ciência e tecnologia, como indústrias de polímeros e têxteis, na eletrônica, na medicina, na química, etc (Figura 2) (MISRA, SCHLUTER & CULLEN, 2016). Com as inúmeras vantagens observadas na implementação do plasma frio nas áreas citadas, a tecnologia começou a ser aplicada também no âmbito alimentício. O plasma pode prolongar a vida de prateleira de produtos processados e *in natura*; reduzir perdas de processamento e armazenamento; aumentar a retenção da qualidade do alimento; economizar o gasto de energia; diminuir os custos de manutenção e de operação; favorecer maior segurança química do alimento e também proporcionar uma sustentabilidade ambiental (KEENER & MISRA, 2016).

**Figura 2** - Uma visão geral das aplicações do plasma em várias áreas da ciência e da tecnologia



Fonte: MISRA, SCHLUTER & CULLEN (2016), com modificações.

### 2.2.2 Efeitos da aplicação do plasma frio nos alimentos

O plasma frio mostrou-se como uma tecnologia eficaz na inativação ou redução de vários microrganismos, sejam eles patogênicos e/ou deteriorantes presentes nos produtos alimentícios (KEENER, 2017). Os seus efeitos frente aos microrganismos é por modificar de forma química, a superfície da membrana, devido as espécies reativas que ocasionam reações oxidativas, tendo como principal alvo, os fosfolipídios e proteínas. As espécies reativas rompem as ligações duplas na camada lipídica da célula, prejudicando a passagem de macromoléculas dentro e fora da célula, assim também, danificam várias organelas celulares, incluindo núcleo e mitocôndrias (DOLEZALOVA & LUKES, 2015).

Estudos realizados sobre o efeito do plasma frio em suco de maçã, laranja, tangerina e tomate resultaram em uma inativação limitada de *E. Coli* (LIÃO et al., 2018; DASAN & BOYACU, 2018; YANNAM et al., 2018). No entanto, Pankaj et al. (2017) verificaram um impacto positivo da tecnologia frente a redução da *Saccharomyces cerevisiae* presente no suco de uva. Em suco de laranja, Xu e colaboradores (2017), observaram também que a utilização do plasma inativou *Salmonella enterica* sorovar Typhimurium.

A dinâmica da química do plasma está relacionada também a mudanças no pH e da acidez, isso porque é atribuída principalmente à interação dos gases reativos com a umidade presente nos produtos alimentícios tratados com o plasma (PANKAJ, WAN & KEENER, 2018).

Nas matrizes sólidas, as espécies reagem com a água superficial, induzindo a formação de compostos ácidos somente na superfície, enquanto que em produtos líquidos, os efeitos são mais acentuados porque as espécies reativas interagem mais facilmente com os compostos dos alimentos por estarem mais dispersos no meio (PANKAJ, WAN & KEENER, 2018). Os efeitos do plasma no pH dos alimentos são neutralizados por diversas razões, como a capacidade tamponante, possibilidade do líquido espargir os tecidos danificados na superfície, levando os ácidos ao exterior e, atividade fisiológica dos tecidos vivos (MISRA, 2016).

Estudo demonstra que a aplicação do plasma em sucos de maçã, laranja e tomate e do néctar azedo de cereja não alteraram o pH (DASAN & BOYACU, 2018). Entretanto, pequenas alterações na acidez foram observadas no suco de tangerina após processamento com plasma (YANNAM et al., 2018). E, no suco de maçã com diferentes °Brix, observou-se ligeira redução de pH, porém, a acidez titulável permaneceu inalterada (WANG et al., 2019).

No que diz respeito a outros constituintes alimentares, como as proteínas e aminoácidos, um dos principais efeitos do plasma frio é a desnaturação, que pode ser devido à interação das espécies reativas formadas por esta tecnologia com os aminoácidos e, modificações na estrutura secundária da proteína devido à perda de  $\alpha$ -hélice e  $\beta$ -folha (LI et al., 2014, SEGATA et al., 2016). As reações ocorridas nas proteínas também são aplicáveis as enzimas (SUROWSKY, BUBLER & SCHLUTER, 2016). A interação dos radicais livres com o sítio ativo da enzima favorece alterações estruturais e mudanças na sua conformação, correlacionando uma forte perda na sua atividade (HATI, PATEL & YADAV, 2018).

O uso do plasma frio na inativação da polifenoloxidase (PPO) em suco de maçã turvo resultou em uma inativação significativa, alcançada após 5 minutos de aplicação. Em um período de 24 horas após o tratamento, observou a total inativação da enzima e nenhuma reativação foi verificada nas matrizes (ILLERA et al., 2019).

A cor dos produtos *in natura* tratados com plasma é modificada, devido a reações químicas indesejáveis, inativação de enzimas e microrganismos. No entanto, diversos outros fatores modificam a cor dos alimentos tratados, como as condições de processamento; as características do produto, se a matriz vai ser submetida ao plasma na sua forma cortada, se é sólido ou líquido, se seus pigmentos estão ou não intactos; suas condições de armazenamento e duração desse (MISRA, 2016).

Uma pesquisa realizada com a aplicação do plasma frio em suco de maçã, resultou em mudanças na cor do produto (WANG ET AL., 2019). Já em outro estudo com suco de mirtilo, o tratamento com plasma frio manteve a qualidade da cor original do suco (HOU et al., 2019).

Assim como outros constituintes alimentares, os carboidratos desempenham um papel importante na manutenção da qualidade de diferentes matrizes alimentares. De modo geral, a aplicação do plasma pode degradar açúcares redutores, aumentar o conteúdo desses após longa exposição a essa tecnologia não térmica, bem como favorecer à despolimerização e reticulação do amido, afetando suas propriedades estruturais, funcionais e reológicas (PANKAJ, WAN & KEENER, 2018).

Em suco de laranja e de maçã o processamento com a tecnologia não térmica mostrou alterações insignificativas no conteúdo de compostos como os açúcares redutores (ALVES FILHO et al., 2016; WANG et al., 2019). Por outro lado, outro estudo observou um aumento ou redução na disponibilidade de açúcares (sacarose, glicose e frutose), dependendo dos parâmetros de processo utilizados (RODRÍGUEZ et al., 2017).

Ainda sobre as modificações nos alimentos pela utilização do plasma, as vitaminas são compostos orgânicos sensíveis à técnicas de processamento e, dentre elas, a mais estudada concentra-se na vitamina C (ácido ascórbico). Supõe-se que o ácido ascórbico se degrada por ataque do ozônio ou por reação indireta devido a oxidantes secundários com o oxigênio singlete, o qual é molecularmente excitado. Contudo, é importante salientar a necessidade de mais pesquisas para analisar os efeitos da plasma sobre outras vitaminas e o seu mecanismo de degradação (PANKAJ, WAN & KEENER, 2018).

No suco de tangerina, pequenas alterações no conteúdo de ácido ascorbico foram identificadas após tratamento com plasma (YANNAM et al., 2018). Um valor de 22% foi verificado na redução da vitamina C em suco de laranja (XU et al., 2017). Em contra partida, no suco de cajú, a menor taxa de fluxo de gás aumentou a vitamina C (RODRÍGUEZ et al., 2017).

O plasma também está correlacionado ao avanço na oxidação de alimentos gordurosos, desta forma, é essencial estudar sua influência nas matrizes alimentares. No entanto, o tempo de tratamento e o gás utilizado podem ser considerados fatores críticos que afetam a oxidação (PANKAJ, WAN & KEENER, 2018). As espécies reativas interagem com os lipídios e o processo de oxidação é iniciado (VAN et al., 2014).

Para que o tratamento com plasma seja realizado de forma eficaz em alimentos ricos em gordura, é fundamental otimizar os parâmetros de processo e do produto. Os lipídios podem tornar-se ainda mais susceptíveis a oxidação se a matriz estudada apresentar componentes pró-oxidantes e seu armazenamento for realizado de maneira incorreta. Logo, importantes estratégias para minimizar a oxidação lipídica devem ser aplicadas, tais como a formulação do produto deve ser ajustada, as faixas de potência precisam ser mais baixas e os períodos de processo mais curtos, além da eliminação do oxigênio durante e após o tratamento com plasma (GAVAHIAN et al., 2018).

Com relação a capacidade antioxidante, pesquisas mostram que a atividade desses compostos nos alimentos permanecem inalteradas pelos tratamentos com plasma, no entanto muitos pesquisadores declaram como algo contra-intuitivo, isso porque pode acontecer que os antioxidantes presentes nos produtos reajam com os radicais livres do plasma (MISRA, 2016). A extensão de tal reação será potencializada pelo tipo de produto alimentício, a fonte de geração de plasma, concentração das espécies reativas, o modo de exposição, taxas de recombinação, taxas de reação antioxidante e os parâmetros de tratamento, os quais são críticos no controle

dos efeitos da tecnologia não térmica na atividade antioxidante dos produtos alimentícios (MISRA, 2016; PANKAJ, WAN & KEENER, 2018).

No estudo realizado por Rodríguez e colaboradores (2017) em suco de caju, obtiveram como resultado um aumento no conteúdo total de polifenóis e da capacidade antioxidante quando a menor taxa de fluxo de gás foi aplicada no processo com plasma, no entanto, a maior vazão degradou os compostos bioativos. Já no suco de mirtilo (HOU et al., 2019), o conteúdo de fenólicos foi significativamente aumentado pelo tratamento e tendências crescentes da atividade antioxidante nos ensaios DPPH e ABTS.

Em uma pesquisa feita por Silveira e demais autores (2018), os quais verificaram o efeito do plasma frio sobre os compostos bioativos de uma bebida de soro de leite com sabor de goiaba, observaram que a aplicação da tecnologia resultou em produtos com maior teor de carotenoides. A aplicação de plasma frio nas bebidas lácteas levou a um aumento desse composto de 24% para 157% superior aos valores encontrados na bebida láctea pasteurizada, mostrando efeitos positivos visto que os carotenóides desempenham um papel importante na atividade antioxidante.

Embora a tecnologia não térmica de plasma frio tenha mostrado um grande potencial como uma alternativa simples, segura e sustentável a vários processos químicos usados na indústria de alimentos (HERALDKEEPER, 2018), ainda assim, não é uma tecnologia regularizada na aplicação de alimentos, pois é nova e não se sabe muito sobre os processos físicos e químicos específicos ao modo de ação (NIEMIRA, 2020).

O processo pelo qual uma tecnologia é aprovada para uso em alimentos começa inicialmente com a problemática a ser resolvida onde, aplica-se a técnica requerida afim de solucionar a questão em prática e, a partir deste momento, uma solicitação ou petição a um órgão regulador para permitir esse uso é iniciada (NIEMIRA, 2020).

Porém, ressalta-se que existem parcerias entre indústria, academia e governo para pesquisar a imensa variedade de tecnologias, definindo uma abordagem otimizada para petição internacional a organismos reguladores. Em primeiro caso, sem dúvida, uma submissão será apresentada nos próximos anos, estabelecendo uma estrutura reguladora para o uso de plasma frio como uma tecnologia de processamento de alimentos totalmente comercializada (NIEMIRA, 2020).

### 3 ABORDAGEM METODOLÓGICA

#### 3.1 MATÉRIA - PRIMA

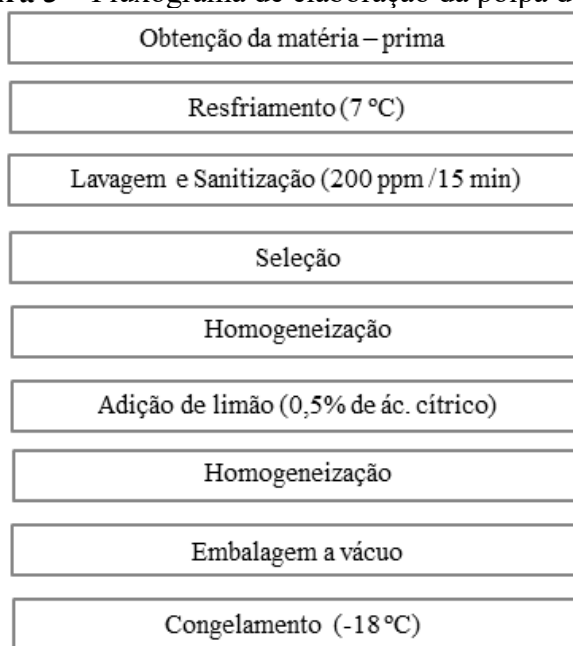
Os abacates (*Persea americana* Mill.) (15 Kg) e o limão (*Citrus latifolia*) (350 g) utilizados na pesquisa foram adquiridos em supermercados e feiras livres, do comércio local de Fortaleza – CE. A seleção do abacate ocorreu a partir da observação do estágio de maturação comercial. Após a aquisição, os frutos foram transportados ao local de execução de processamento.

#### 3.2 LOCAL DE EXECUÇÃO

O processamento da polpa com aplicação do Plasma frio foi realizado no laboratório de Biotecnologia da Universidade Federal do Ceará, Campus do Pici na cidade de Fortaleza - CE. Os demais experimentos foram realizados na Universidade Federal da Paraíba, nos laboratórios do Departamento de Tecnologia de Alimentos localizados no Centro de Tecnologia e Desenvolvimento Regional (CTDR). A cor instrumental e o perfil de ácidos graxos foram realizados no Laboratório de Química de Alimentos (LAQA), do Departamento de Engenharia de Alimentos do Centro de Tecnologia (CT). Todas as análises foram realizadas em triplicata para melhor obtenção e confiabilidade dos resultados e, expressos como média  $\pm$  desvio padrão.

#### 3.3 PROCESSAMENTO DA POLPA DE ABACATE

Estudos preliminares foram realizados afim de produzir uma polpa de abacate sem uso de conservantes químicos e com características sensoriais adequadas e, como resultado, uma polpa de abacate com adição de extrato de limão e vida de prateleira de 60 dias foi obtida. Desta forma, elaborou-se duas polpas de abacate, uma com extrato de limão (PACE) e uma sem extrato (PASE). A polpa com adição de extrato de limão foi produzida com base na solicitação de patente de número de depósito: BR 10 2017 025357 0, desenvolvida pelo o estudo realizado por Batista (2017). A fabricação das polpas seguiu o fluxograma proposto na Figura 3.

**Figura 3** – Fluxograma de elaboração da polpa de abacate

Fonte: BATISTA (2017).

Após obtenção da polpa de abacate, 60 mL do produto foi armazenado em tubo de polipropileno Falcon (3 tubos para cada amostra) e selada a vácuo (Vacuum Concept, Brasil) para o estudo do delineamento experimental (Tabela 3) aplicando o plasma frio. Duas polpas foram processadas para o controle, sem uso do plasma frio, uma com adição de extrato de limão e outra sem adição de extrato.

**Tabela 3.** Delineamento experimental com processamento em plasma frio

| Tratamento | Tempo (min) | Fluxo de gás (mL/min) |
|------------|-------------|-----------------------|
| T1         | 10          | 10                    |
| T2         | 30          | 10                    |
| T3         | 10          | 30                    |
| T4         | 30          | 30                    |
| T5         | 20          | 10                    |
| T6         | 20          | 30                    |
| T7         | 10          | 20                    |
| T8         | 30          | 20                    |
| T9         | 20          | 20                    |

Fonte: AUTOR (2020).

O ar sintético foi o utilizado para gerar o plasma (grau FID 4.5, pureza 99,95%, White Martins, Brasil) e o equipamento de plasma para aplicar os tratamentos foi o de descarga luminescente (Figura 4) (Venus PE100, Plasma Etch, EUA), o qual é composto por uma bomba de óleo de acionamento direto do estágio 5CFM2 (Serviço de oxigênio - Krytox carregado), uma câmara de alumínio (5,5 pol. W  $\times$  7 pol. D  $\times$  3,5 pol. H), um eletrodo horizontal (folga de 4,5 pol. W  $\times$  6 pol. D + 2,5 pol.) de 80 W e, uma fonte de alimentação de 50 kHz.

**Figura 4** – Equipamento de Plasma frio de descarga luminescente



Fonte: AUTOR (2020).

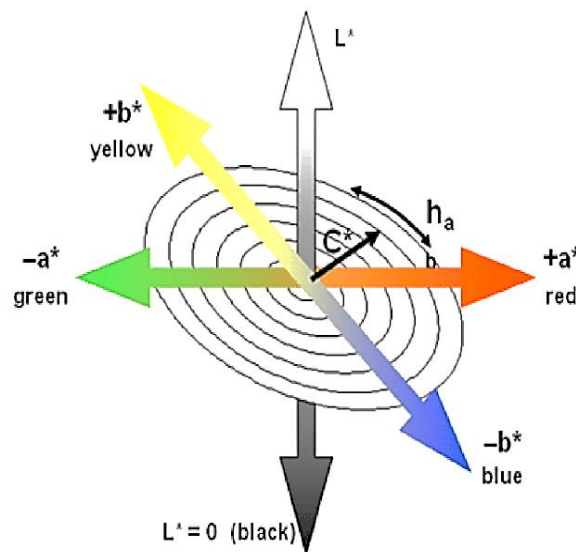
### 3.4 ANÁLISE DE COR

A cor das amostras foi analisada através do método instrumental com auxílio de um colorímetro portátil (Konica Minolta Sensing, Inc., Osaka, Japan), calibrado com um padrão

branco. As amostras foram transferidas para cubetas onde, procedeu-se as leituras dos parâmetros  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*$  e  $h_a$ , (Figura 5) diretamente do equipamento.

Os parâmetros de cor indicam a luminosidade ( $L^*$ ) com valor máximo de 100, enquanto que o valor mínimo é zero e constitui o preto. A tonalidade da amostra não apresenta limites numéricos específicos, porém toma-se como referência o valor de 60 unidades de cor ( $+a^*$  direção para o vermelho,  $-a^*$  direção para o verde,  $+b^*$  direção para o amarelo e  $-b^*$  direção para o azul) (GAYA, 2006).

**Figura 5** – Ilustração do Espaço de cor



Fonte: NEIRO et al. (2013).

O croma ( $C^*$ ) expressa a saturação ou intensidade da cor e foi calculado de acordo com as equações (1) (MCguire, 1992).

$$C^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2} \quad (1)$$

Já o ângulo de matiz ( $h_a$ ) indica a cor observável e é definido como iniciando no eixo  $+a^*$ , em graus, em que  $0^\circ$  é  $+a^*$  (vermelho),  $90^\circ$  é  $+b^*$  (amarelo),  $180^\circ$  é  $-a^*$  (verde), e  $270^\circ$  é  $-b^*$  (azul), o qual foi calculado seguindo a equação (2), também estabelecida por MCguire (1992).

$$h_a = \tan^{-1} \frac{b^*}{a^*} \quad (2)$$

O ( $\Delta E$ ) significa a diferença total da cor (PAPADAKIS et al., 2000) e foi expressado pela equação (3):

$$\Delta E = (\Delta L^{*2} + \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2})^{0,5} \quad (3)$$

Onde:

$\Delta L$  = diferença de luminosidade entre amostras tratadas e controle;

$\Delta a$  = diferença da direção  $a^*$  entre amostras tratadas e controle;

$\Delta b^*$  = diferença da direção  $b^*$  entre amostras tratadas e controle.

Para o índice de escurecimento (IE) foi realizado o cálculo usando o equação (4) proposta por Maskan (2001):

$$IE = \frac{100(x-0.31)}{0.172}, \text{ onde } x = + \frac{1.75L}{5.645L} + a - 3.012b \quad (4)$$

### 3.5 POTENCIAL HIDROGENIÔNICO (pH)

A determinação do pH da amostra foi efetuada utilizando um pHmetro digital (BEL, Monza, Itália), previamente calibrado com soluções tampões de pH 7,0 e 4,0 (AOAC, 1995).

### 3.6 ATIVIDADE DA POLIFENOLOXIDASE

Para o estudo da atividade enzimática, a polifenoloxidase foi extraída de acordo com a metodologia adaptada por Jesus, Leite e Cristianini (2018), com modificações. Pesou-se 10 g de polpa de abacate e misturou com 50 mL de tampão fosfato de potássio 0,1 M, pH 6,5, contendo polivinilpirrolidona a 0,5% (PVPP). Homogeneizou-se a solução em um vortex (VX – 38, Warmnest, Brasil) a 3.800 rpm por 1 minuto e depois centrifugou-se a 4 ° C por 30 minutos a 7.500 rpm (5430 R, eppendorf, Hamburg, Germany). Posteriormente, filtrou-se, em papel qualitativo, o sobrenadante contendo a enzima para obtenção do extrato. Para a atividade da PPO, 100  $\mu$ L de extrato enzimático foram misturados com 0,7 mL de catecol (0,2 M) e 2,3 mL de tampão fosfato de sódio (pH 6,5 / 0,1 M). A atividade da PPO foi determinada em um

fluorímetro (Fluorstar Omega, BMG LABTECH, Germany) com 420nm/15 min a 25 ° C. A atividade enzimática relativa (REA) foi calculada pela equação (5) de acordo Oktay et al. (1995).

$$(RA\%) = 100 * \frac{A}{A_0} \quad (5)$$

Onde:

A = atividade PPO inicial;

A<sub>0</sub> = atividade enzimática em um dado momento.

### 3.7 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

#### *3.7.1 Extração da fração lipídica e hidrofílica*

Para a obtenção do extrato hidrofílico, inicialmente foi realizado extração da fração lipofílica e, ambas utilizaram o método adaptado por Prior et al. (2003), com algumas modificações. Para o extrato lipofílico, pesou-se 5 g de amostra e diluiu-a em 5 mL de hexano. Posteriormente, agitou-se a solução por 2 minutos em agitador de tubos tipo vortex (VX – 38, Warmnest, Brasil) e então ultrassonificou (USC – 180, UNIQUE, Brasil) por 30 minutos a temperatura ambiente. Em seguida, centrifugou-se a solução a 4°C/15 min em uma rotação de 5000 rpm (5430 R, eppendorf, Hamburg, Germany) e removeu o sobrenadante. Repetiu-se esta operação de extração por mais uma vez e recolheu os sobrenadantes, combinando-os para rotaevaporar (RV3 V, IKA, São Paulo, Brasil) o solvente. Ressuspendeu com 1 mL de hexano, guardando o extrato obtido em frasco âmbar e congelando-o para ser utilizado na atividade antioxidante pelo método ORAC - L – fração lipofílica.

Com o resíduo da primeira extração, efetuou-se a extração da fração hidrofílica com 5 mL de uma solução com acetona, água e ácido acético (70: 29,5: 0,5) e seguiu os mesmos procedimentos descritos para a extração da fração lipofílica. Por fim, os extratos foram reunidos e avolumados com solução de acetona, água e ácido acético para um volume final de 20 mL. Com este extrato, realizou-se a análise de DPPH, ORAC e fenólicos totais.

### 3.7.2 Capacidade de sequestro do DPPH•

A atividade antioxidante das polpas foi quantificada pela capacidade dos extratos sequestrar ou desativar o radical estável DPPH• (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) de acordo com o método utilizado por Rufino et al. (2009). O sistema da reação foi composto pelo controle (20 µL de água destilada); branco (200 µL de metanol 80%); curva Trolox (20 µL de Trolox - diferentes concentrações ) e 20 µL de extrato proveniente das polpas, sendo posteriormente incubadas por 30 minutos a temperatura ambiente. Após o tempo de incubação, foi adicionado 180 µL de solução DPPH (80 µM) e absorbância lida em 544 nm (Fluorstar Omega, BMG LABTECH, Germany). Os resultados foram apresentados pela concentração em gramas da amostra inibir 50% no radical DPPH• (EC50), e os valores expressos em g da polpa/g DPPH•.

### 3.7.3 Capacidade de absorção dos radicais oxigenados (ORAC)

#### 3.7.3.1 ORAC – H – Fração Hidrofílica

Utilizando a metodologia adaptada por Dávalos, Cordovés e Bartolomé (2004), com algumas modificações, o ensaio ORAC baseia-se na utilização de um leitor de multiplacas, onde adicionou-se 20 µL de extrato provenientes da amostra e homogeneizados com 120 µL de fluoresceína (61,2 nM) e agitados por 3 minutos, sendo posteriormente incubadas por 30 minutos a 37°C. Transcorrido o tempo de 30 minutos, acrescentou-se nas microplacas 60 µL de solução AAPH (19 mM), favorecendo a iniciação da reação. Todos os reagentes utilizados foram preparados com solução tampão fosfato 75 mM, pH 7,4 e, o volume final contido na placa resultou em 200µL. A intensidade de fluorescência (excitação = 485 nm/20 nm e emissão= 528/20 nm) foi verificada em modo cinético (Fluorstar Omega, BMG LABTECH, Germany), com leitura em intervalos de 1 minuto, até que o valor da fluorescência fosse inferior ou igual a 0,5% da inicial. A atividade antioxidante foi expressa em µmol de equivalente trolox por 100g de polpa (µmol TE 100g<sup>-1</sup> de polpa).

#### 3.7.3.2 ORAC -L – Fração Lipofílica

O método utilizado para o estudo da atividade antioxidante por ORAC da fração lipofílica foi o adaptado por Prior et al. (2003) e Wu et al. (2004), os quais sofreram modificações. Preparou-se uma concentração de 10 mg/mL (p/v) de amostra e diluiu com solução de ciclodextrina metilada randomizada a 7% (RMCD) em solução acetona:água (1:1), seguido de ultrassonicação (USC – 180, UNIQUE, Brasil) a 10°C durante 30 minutos. O sistema de reação da microplaca foi composto de 20µL de amostra, 120 µL de solução de fluoresceína e, em seguida, com incubação de 30 minutos a 37°C, depois adicionou-se na placa 120 µL de AAPH a uma temperatura constante de 37°C. A intensidade de fluorescência (excitação = 485nm e emissão = 520nm) foi verificada a cada ciclo de 60 segundos, durante 80 ciclos em leitor de microplacas. A atividade antioxidante foi expressa em µmol de equivalente trolox por 100g de polpa (µmol TE 100g<sup>-1</sup> de polpa).

### 3.8 FENÓLICOS TOTAIS

A quantidade de fenólicos totais do extrato foi determinada de acordo com o método de Folin-Ciocalteu (SINGLETON & ROSSI, 1965), com algumas modificações. Utilizou-se 0,125 g de ácido gálico e diluiu em balão de 25 mL com água deionizada para preparação da solução mãe. Preparou-se uma curva de ácido gálico com concentrações de 0 – 500 ppm e retirou-se 100 µL de cada uma dessas concentrações, adicionando 2 mL de água deionizada, 0,5 mL de reativo Folin-Ciocalteu e esperou 2 min, após adicionou 1,5 mL de carbonato de sódio e deixou em repouso por 2h. A absorbância foi medida após 2 horas a 765 nm e 25 °C (SP 22, Biospectro, Curitiba, Brasil). Cerca de 100 µL de extrato da polpa de abacate foi diluído em 2 mL de água e submetido ao mesmo procedimento realizado para a preparação da curva de calibração. O teor total de fenólicos foi expresso em equivalentes de ácido gálico (GAE) em mg/100g de extrato.

### 3.9 CAROTENOIDES TOTAIS

Para a quantificação de carotenoides totais presentes nas polpas de abacate, utilizou-se o método proposto por Lichtenthaler (1987), com algumas modificações. Desta forma, pesou-se 0,2 g da amostra, 0,2 g de carbonato de cálcio (CaCO<sub>3</sub>) e diluiu com 3 mL de acetona 80%, agitando a mistura em um agitador de tubos tipo vortex (VX – 38, Warmnest, Brasil) até

total homogeneização da solução e, verteu-se o extrato em um tubo de centrifuga, o qual posteriormente lavou-se o resíduo com 2 mL de acetona para completar um volume final de 5 mL. Em seguida, centrifugou-se a solução a 10°C/10 min em uma rotação de 3000 rpm (5430 R, eppendorf, Hamburg, Germany) e coletou o sobrenadante, observando o volume. Transferiu-se uma alíquota para uma cubeta e, realizou-se a leitura em espectro (SP 22, Biospectro, Curitiba, Brasil) no escuro com os seguintes comprimentos de onda: 470 nm, 646 nm e 663 nm. A concentração de carotenoide foi expressa em mg/100g de amostra e, calculada por meio das seguintes equações (6), (7) e (8):

$$\text{Clorofila a (mg/100g)} = [(12,21 * A_{663} - 2,81 * A_{646}) * D] / (m * 1000) \quad (6)$$

$$\text{Clorofila b (mg/100g)} = [(20,13 * A_{646} - 5,03 * A_{663}) * D] / (m * 1000) \quad (7)$$

$$\text{Carotenoides totais (mg/100g)} = [(1000 * A_{470} - 1,82 Ca - 85,02 Cb / 198)] / (m * 1000) \quad (8)$$

Onde:

D = diluição final (mL);

m = massa (g) da amostra;

Ca = clorofila a;

Cb = clorofila b.

### 3.10 PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS

#### 3.10.1 Extração lipídica

Para a obtenção dos lipídios presentes nas polpas, pesou-se 10 g de polpa em erlenmeyer de 100 mL com adição de 10 mL de clorofórmio, 20 mL de metanol e 8 mL de água destilada. Logo depois, a solução foi homogeneizada em mesa agitadora orbital (AO-370, Gehaka, Brasil) por 30 minutos. Acrescentou-se 10 mL de clorofórmio e 10 mL de sulfato de sódio a 1,5% onde, agitou-se por 2 minutos (AO-370, Gehaka, Brasil). A solução foi posta a descanso para separação das fases e, posteriormente, filtrou-se a camada inferior em funil de separação (BILIGH & DYER, 1959), recolhendo-a para esterificação.

### 3.10.2 Esterificação

A esterificação do extrato lipídico foi realizada pelo método de Hartmann e Lago (1973). Tomou-se uma alíquota de 5 mL e transferiu-se para o balão de fundo chato de 250 mL. Adicionou-se 4 mL da solução de hidróxido de potássio. Colocou-se a mistura de KOH e extrato lipídico para aquecer em refluxo durante 4 minutos a partir do início da fervura, agitando-se sempre para que a saponificação fosse eficiente. Após, retirou-se do aquecimento e adicionou 7,5 mL da solução esterificação. Conectou-se novamente ao refluxo por mais 3 minutos, sob agitação. Posteriormente, retirou-se o balão e o tampou com papel alumínio para resfriamento. Transferiu-se o conteúdo do balão para o funil de separação e adicionou-se 12,5 mL de éter etílico e 25 mL de água destilada. Agitou-se o conteúdo do funil e esperou separar duas fases, obtendo a inferior, mas revertendo a superior. Posteriormente, desprezou a parte inferior do funil em um novo funil e adicionou 12,5 mL de éter etílico e 25 mL de água destilada. Agitou-se e, novamente, esperou separar as duas fases. Desprezou a parte inferior do funil e transferiu-se o conteúdo superior do segundo funil para o primeiro funil, juntando as duas partes superiores. Agitou-se o conteúdo e esperou separar as duas fases, desprezando a parte inferior e adicionou-se 12,5 mL de água destilada e inverteu-se delicadamente o funil, soltando o vapor até não se observar mais desprendimento de gás. Mais uma vez, esperou-se separar as fases e desprezou-se a fase inferior. Repetiu a adição de 12,5 mL de água destilada e inverteu-se delicadamente o funil com desprezo da parte inferior por mais 2 vezes. Filtrou-se o conteúdo do funil com papel de filtro contendo sulfato de sódio anidro e lavou o funil com hexano. Por último, deixou o frasco aberto para evaporar a mistura de solventes e quando seco, acrescentou-se 1 mL de hexano e o armazenou sob congelamento.

A identificação dos ésteres de ácidos graxos foi realizada por cromatógrafo gasoso (VARIAN 430-GC, California, USA) com detector de ionização de chama (DIC); coluna capilar de sílica fundida (SP TM – 2560, SUPELCO, Bellefonte, EUA) com dimensões de 100 m x 0,25mm e 0,25µm de espessura do filme; hélio como gás de arraste (vazão de 1 mL/min) foi o utilizado. A temperatura inicial do forno foi de 40 °C por 2 minutos, com programação para atingir 240°C, aumentando 10 °C por minuto até atingir 180 °C, permanecendo por 30 minutos, seguido por outro aumento com taxa de 10 °C por minuto até atingir 240 °C permanecendo por mais 10 min com um tempo total de corrida de 62 minutos; a temperatura do injetor mantida e do detector foi de em 250 °C. Fluxo dos gases auxiliares foram: Hélio 25

ml / minuto, Hidrogênio 30 ml / minuto, Ar sintético 300 ml / minuto. Alíquotas de 1,0 µL do extrato esterificado foram injetadas em injetor tipo Split/Splitless (Split 1:100). Os cromatogramas foram registrados em software (GALAXIE CHROMATOGRAPHY DATA SYSTEM). Os ácidos graxos foram identificados por comparação dos tempos de retenção dos ésteres metílicos das amostras com padrões Supelco ME19 - Kit (FATTY ACID METHYL ESTERS C6 -C24). Os resultados dos ácidos graxos foram quantificados por normalização das áreas dos ésteres metílicos e expressos em percentual de área (%).

### 3.11 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para análise estatística dos resultados de todo o estudo, os dados foram tabulados e organizados em tabelas do programa Excel. Posteriormente, os mesmos foram transferidos para o pacote computadorizado STATISTICA, versão 7, sendo analisados por meio de histogramas e análise de variância univariada (ANOVA), seguida do teste de Tukey e t- Student, considerando-se o nível de significância de  $p \leq 0,05$  e nível de confiança de 95%.

## REFERÊNCIAS

- AGRIANUAL 2017: **Anuário da Agricultura Brasileira**. 22. ed. São Paulo: FNP Consultoria & Agroinformativos, p. 450, 2017.
- ALVES FILHO, E.G.; ALMEIDA, F.D.; CAVALCANTE, R.S.; DE BRITO, E.S.; CULLEN, P.J.; FRIAS, J.M.; BOURKE, P.; FERNANDES, F.A.; RODRIGUES, S. <sup>1</sup>H NMR spectroscopy and chemometrics evaluation of non-thermal processing of orange juice. **Food Chemistry**, p.102–107, 2016.
- AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS. **Methods of analysis of AOAC International**. 16. ed. Arlington: AOAC, p. 777-801, 1995.
- ARAUJO, R.G.; RODRIGUEZ, J. R. M.; RUIZ, H.A.; PINTADO, M.M.E.; AGUILAR, C.N. Avocado by-products: nutritional and functional properties. **Trends in Food Science and Technology**, v. 80, p. 51–60, 2018.
- BARBA, F. J.; MARIUTTI, L. R. B.; BRAGAGNOLO, N.; MERCADANTE, A. Z.; CANOVAZ, G. V. B.; ORLIEN, V. Bioaccessibility of bioactive compounds from fruits and vegetables after thermal and nonthermal processing. **Trends in Food Science & Technology**, v. 67 p. 195-206, 2017.
- BÁRDOS, L.; BARÁNKOVÁ, H. Cold atmospheric plasma: sources, processes, and applications. **Thin Solid Films**, p. 6705-6713, 2010.
- BATISTA, J. D. F. **Polpa de Abacate (*Persea americana* var. *Hass*): um estudo da vida de prateleira**. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2017.
- BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal Biochemistry Physiological**, Ottawa, v. 27, n. 8, p. 911-917, 1959.
- CÁBIA, N. C.; VIEITES, R. L. Alterações físicas do abacate Hass submetido à aplicação de 1-MCP. **Energia na Agricultura**, Botucatu, v. 28, n. 2, p. 129 - 134, 2013.
- CARR, M. K.V. The water relations and irrigation requirements of avocado (*Persea americana* Mill.): a review. **Journal of experimental agriculture international**. n. 49, p. 256- 278, 2013.
- CARVALHO, C. et al. **Anuário brasileiro da fruticultura 2017**. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, p. 88, 2017. Disponível em: <[http://www.editoragazeta.com.br/wp-content/uploads/2017/03/PDF-Fruticultura\\_2017.pdf](http://www.editoragazeta.com.br/wp-content/uploads/2017/03/PDF-Fruticultura_2017.pdf)> Acessado em: 11 de out., 2019.
- CHOI, S.; PULIGUNDLA, P.; MOK, C. Effect of corona discharge plasma on microbial decontamination of dried squid shreds including physico-chemical and sensory evaluation. **LWT 642 - Food Science and Technology**, p. 323-328, 2017.

CICERO, N.; ALBERGAMO, A.; SALVO, A.; BUA, G. D.; BARTOLOMEO, G., MANGANO, V.; ... DUGO, G. Chemical characterization of a variety of cold-pressed gourmet oils available on the Brazilian market. **Food Research International**, v. 109, p. 517–525, 2018.

COELHO, M. S.; FERNANDES, S. S.; MELLADO, M. M. S. Association Between Diet, Health, and the Presence of Bioactive Compounds in Foods. **Bioactive Compounds**. Elsevier, 2019.

COUTINHO, N. M.; SILVEIRA, M. R.; ROCHA, R. S.; MORAES, J.; VINICIUS, M.; FERREIRA, S.; CRUZ, A. G. Cold plasma processing of milk and dairy products. **Trends in Food Science & Technology**, v. 74, p. 56–68, 2018.

COWAN, A. K.; WOLSTENHOLME, B. N. Avocado. In B. Caballero, P. M. Finglas, & F. Toldrá (Eds.). Encyclopedia of food and health. **Oxford University Press**, p. 294–300, 2016.

DAIUTO, E. R.; VIEITES, R. L.; TREMOCOLDI, M. A.; VILEIGAS, D. F. Estabilidade físico-química de um produto de abacate acondicionado em diferentes embalagens e conservado pelo frio. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 21, n. 1, p. 99-107, 2010.

DAIUTO, E. R.; VIEITES, R.L., SIMON, J. W.; CARVALHO, L. R.; PEGORETTI, C. Avaliações sensoriais, bioquímicas e microbiológicas do guacamole, um produto à base de abacate, sob armazenamento a frio e com adição de ácido ascórbico. Semina: **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, n. 2, p. 599-612, 2011.

DANTAS, D.; PASQUALI, M. A.; MATA, M. C.; DUARTE, M. E.; LISBOA, H. M. Influence of spray drying conditions on the properties of avocado powder drink. **Food Chemistry**, p. 284–291, 2018.

DASAN, B. G.; BOYACI, I. H. Effect of Cold Atmospheric Plasma on Inactivation of Escherichia coli and Physicochemical Properties of Apple, Orange, Tomato Juices, and Sour Cherry Nectar. **Food Bioprocess Technology**, v. 11, p.334–343, 2018.

DÁVALOS, A.; GÓMEZ-COROVÉS, C.; BARTOLOMÉ, B. Extending Applicability of the Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC–Fluorescein) Assay. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n.1, p. 48–54, 2004.

DOLEZALOVA, E.; LUKES, P. Membrane damage and active but nonculturable state in liquid cultures of Escherichia coli treated with an atmospheric pressure plasma jet. **Bioelectrochemistry**, p.7-14, 2015.

DREHER, M. L.; DAVENPORT, A. J. Hass avocado composition and potential health effects. Crit. **Reviews in Food Science and Nutrition**, p. 738-750, 2013.

EKEZIE, F. G. C.; SUN, S. W.; CHENG, J. H. A review on recent advances in cold plasma technology for the food industry: Current applications and future trends. **Trends in Food Science & Technology**, v. 69, p. 46-58, 2017.

FAO. FAOSTAT, **Food and Agriculture Organization of the United Nations**, 2018. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/340/default.aspx>>. Acessado em: 28 out, 2019.

FERNÁNDEZ, E. H.; GUITIÉ, A. F.; PANCORBO, A. C. Avocado fruit—*Persea americana*. **Exotic Fruits Reference Guide**. Elsevier, p. 37 - 48, 2018.

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

FUENTES CAMPO, A., SANCHEZ, M. I., MELO, G., DÁVILA, Y. A., & GASULL, E. In vitro and in vivo inhibition of Hass avocado polyphenol oxidase enzymatic browning by paeonol,  $\beta$ -cyclodextrin, and paeonol: $\beta$ -cyclodextrin inclusion complex. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, 2018.

GAVAHIAN, M., CHU, Y. H., KHANEGHAH, A. M., BARBA, F. J., & MISRA, N. N. A critical analysis of the cold plasma induced lipid oxidation in foods. **Trends in Food Science & Technology**, v. 77, p. 32-41, 2018.

HARTMANN, L.; LAGO, R.C.A. Rapid preparation of fatty acids methyl esters from lipids. **Laboratory practices**, v.22, p. 475-477, 1973.

HATI, S.; PATEL, M.; YADAV, D. Food bioprocessing by non-thermal plasma technology. **Current Opinion in Food Science**, v 19, p. 85–91, 2018.

HERALDKEEPER. **Cold plasma technology market 2018 global analysis, research, review, applications and forecast to 2025**. Disponível em: <<http://heraldkeeper.com/featured/cold-plasmatechnology-market-2018-global-analysisresearchreviewapplications-forecast-2025>>. Acessado em 30 de Março de 2020.

HERCEG, Z.; KOVAČEVIĆ, D. B.; KLJUSURIĆ, J. G.; JAMBRAK, A. R., ZORIĆ, Z.; DRAGOVIĆ-UZELAC V. Gas phase plasma impact on phenolic compounds in pomegranate juice. **Food Chemistry**, v. 190, n. 1, p. 665-672, 2016.

HOU, Y., WANG, R.; GAN, Z.; SHAO, T.; ZHANG, X.; HE, M.; SUN, A., Effect of cold plasma on blueberry juice quality, **Food Chemistry**, 2019.

ILLERA, A.E.; CHAPLE, S.; SANZ, M.T.; NG, S.; LU, P.; JONES, J.; CAREY, E.; BOURKE, P. Effect of Cold plasma on Polyphenol oxidase inactivation in cloudy apple juice and on the quality parameters of the juice during storage, **Food Chemistry**, 2019.

IBGE. **INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA**. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/5457#resultado>>. Acessado em 23 de Novembro de 2019.

JAMBRAK, A. R. Non-thermal and Innovative Processing Technologies. **Reference Module in Food Science**. 2018.

JESUS, A. L. T.; LEITE, T., S.; CRISTIANINI, M. High isostatic pressure and thermal processing of açaí fruit (*Euterpe oleracea* Martius): Effect on pulp color and inactivation of

peroxidase and polyphenol oxidase. **Food Research International**, v. 105, p. 853 – 862, 2018.

KEENER, K. M.; MIARA, N.N. Future of Cold Plasma in Food Processing. **Cold Plasma in Food and Agriculture**. Elsevier, 2016.

KEENER, S. K. P. V. M. Cold plasma: background, applications and current trends. **Current Opinion in Food Science**, v. 16, p. 49-52, 2017.

KOVACEVIC, D. B.; PUTNIK, P.; UZWALAC, D. V.; PEDISIC, S.; JAMBRAK, A. R.; HERCEG, Z. Effects of cold atmospheric gas phase plasma on anthocyanins and color in pomegranate juice. **Food Chemistry**, v. 190, p. 317–323, 2016.

LIÃO, X.; LI, J.; MUHAMMAD, A.I.; SUO, Y.; CHAN, S.; YE, X.; LIU, D.; DING, T. Application of a dielectric barrier discharge atmospheric cold plasma (Dbd-acp) for *Escherichia coli* inactivation in apple juice. **Journal of Food Science**, v. 83, n. 2, p. 401–408, 2018.

LICHTENTHALER, H. K. Chlorophylls and Carotenoids: Pigments of Photosynthetic Biomembranes. In: PACKER, L., DOUCE, R. (Eds.). **Methods in Enzymology**. London, v. 148, p. 350-382, 1987.

LINTIG, J., BABINO, D. Vitamin A and Other Carotenoids. **Principles of Nutrigenetics and Nutrigenomics**, p. 237-244, 2020.

MARCIEL, M. R. A. Abacate: aspectos técnicos da produção. In: LEONEL, Sarita; SAMPAIO, Aloísio Costa. São Paulo: Universidade Estadual Paulista: **Cultura Acadêmica Editora**, p. 239, 2008.

MASKAN, M. Kinetics of colour change of kiwifruits during hot air and microwave drying. **Journal of Food Engineering**, v. 48, p. 169–175, 2001.

MCGUIRE, R. G.; Reporting of Objective Color Measurements. **HortScience**, v. 27, n. 12, p. 1254- 1255, 1992.

MEHTA, D.; SHARMA, N.; BANSAL, V.; SANGWAN, R. S.; YADAV, S. K. Impact of ultrasonication, ultraviolet and atmospheric cold plasma processing on quality parameters of tomato-based beverage in comparison with thermal processing. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 52, p. 343–349, 2019.

MISRA, N.N. Quality of Cold Plasma Treated Plant Foods. **Cold Plasma in Food and Agriculture**. Elsevier, 2016.

MISRA, N.N. The contribution of non-thermal and advanced oxidation technologies towards dissipation of pesticide residues. **Trends Food Sci. Technol**, v. 45, n. 2, p. 229–244, 2015.

MISRA, N.N.; PANKAJ, S.K.; SEGAT, A.; ISHIKAWA, K. Cold plasma interactions with enzymes in foods and model systems. **Trends Food Sci. Technol**, v. 55, p. 3947, 2016.

MISRA, N.N.; SCHLUTER, O.; CULLEN, P. J. Plasma in Food and Agriculture. **Cold Plasma in Food and Agriculture**. Elsevier, 2016.

MISRA, N.N.; KEENER, K.M.; BOURKE, P.; MOSNIER, J.P.; CULLRN, P.J. In-package atmospheric pressure cold plasma treatment of cherry tomatoes. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v.118, p. 177- 182, 2014.

MISRA, N. N.; JO, C. Applications of cold plasma technology for microbiological safety in meat industry. **Trends in Food Science & Technology**, v. 64, p.74-86, 2017.

MISRA, N. N.; KOUBAA, M.; ROOHINEJA, S.; JULIANO, P.; AILPAZ, H.; INACIO, R. S.; SARAIVA, J. A.; BARBA, F. J. Landmarks in the historical development of twenty first century food processing technologies. **Food Research International**, v. 97, p. 318-339, 2017.

MURANYI, P.; WUNDERLICH, J.; HEISE, M. Influence of relative gas humidity on the inactivation efficiency of a low temperature gas plasma. **Journal of Applied Microbiology**, v. 104, n. 6, p. 1659-1666, 2008.

NEIRO, E. S. et al. Análise de cor de para discriminação de seis variedades de cana-de-açúcar em quatro épocas de colheita no ano. **Anais XVI Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto - SBSR**, Foz do Iguaçu, 2013.

NIEMIRA, B. A. Regulatory status of cold plasma in food applications. **Advances in Cold Plasma Applications for Food Safety and Preservation**, p. 341–349, 2020.

OJHA, K., DUBEY, S., CHANDRAKAR, J., MINJ, A.R., DEHARIYA, R., DIXIT, K. A review on different methods of determination of antioxidant activity assay of herbal plants, **Res. J. Life Sci. Bioinf. Pharm. Chem. Sci.** p. 707, 2018.

ONWUDE, D. I.; HASHIM, N.; JANUS, R.; ABDAN, K.; CHEN, G.; OLADEJO, A. O. Non-thermal hybrid drying of fruits and vegetables: A review of current technologies. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 43, p. 223–238, 2017.

OKTAY, M., KÜFREVIOLU, I., KOCAÇALIŞKAN, I., & ŞAKLROLU, H. Polyphenoloxidase from Amasya Apple. **Journal of Food Science**, v. 60, p. 494–496, 1995.

PAIXÃO, L. M. N.; FONTELES, T. V.; OLIVEIRA, V. S.; FERNANDES, F. A. N.; RODRIGUES, S. Cold Plasma Effects on Functional Compounds of Siriguela Juice. **Food and Bioprocess Technology**, 2018.

PANKAJ, S. K.; WAN, Z.; KEENER, K. M. **Effects of Cold Plasma on Food Quality: A Review Foods**, 2018.

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

PAPADAKIS, S. E. et al. versatile and inexpensive technique for measuring color foods. **Food Technology**, v. 54, n. 12, p. 48 - 51, 2000.

PEDROUSO, M. L.; REINOSO, B. D.; LORENZO, J. M.; CRAVOTTO, G.; BARBA, F. J.; MOURE, A.; DOMINGUEZ, H.; FRANCO, D. Green technologies for food processing: Principal considerations. Innovative Thermal and Non-Thermal Processing, **Bioaccessibility and Bioavailability of Nutrients and Bioactive Compounds**, 55–103. 2019.

PRAKASH, A., Non-thermal processing technologies to improve the safety of nuts. In: **Improving the Safety and Quality of Nuts**, p. 35–55, 2013.

PRIOR, R. L.; HOANG, H.; GU, L.; WU, X.; BACCHIOCCA, M.; HOWARD, L.; et al. Assays for hydrophilic and lipophilic antioxidant capacity (oxygen radical absorbance capacity (ORACFL) of plasma and other biological and food samples. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 3273–3279, 2003.

RODACKA, A.; GERSZON, J.; PUCHALA, M.; BARTOSZ, G. Radiation-induced inactivation of enzymes—molecular mechanism based on inactivation of dehydrogenases. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 128, p. 112–117, 2016.

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**, v. 84, 457–463, 2017.

RODRÍGUEZ, C. J.G.; MORCUENDE, D.; ESTÉVEZ, M. Avocado by-products as inhibitors of color deterioration and lipid and protein oxidation in raw porcine patties subjected to chilled storage. **Meat Science**, p.166–173, 2011.

RUFINO, M. S. M.; FERNANDES, F. A. N.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S. Free radicalscavenging behaviour of some north-east Brazilian fruits in a DPPH\_ system. **Food Chemistry**, v. 114, n. 2, p. 693-695, 2009.

SANTOS, M.A.Z.; ALICIEO, T.V.R.; PEREIRA, C.M.P.; RAMIS-RAMOS, G.; MENDONCA, C.R.B. Profile of bioactive compounds in avocado pulp oil: influence of the drying processes and extraction methods. **Journal of the American Oil Chemists 'Society**, v 91, p. 19-27, 2014.

SEGAT, A.; MISRA, N. N.; CULLEN, P. J.; INNOCENT, N. Effect of atmospheric pressure cold plasma (ACP) on activity and structure of alkaline phosphatase. **Food and Bioproducts Processing**, v. 98, p. 181–188, 2016.

SCHOLTZ, V.; PAZLAROVA, J.; SOUSKOVA, H.; KHUN, J.; JULAK, J. Nonthermal plasma- A tool for decontamination and disinfection. **Biotechnology Advances**, v. 33, p. 1108-1119, 2015.

SCHAFFER, B.; WOLSTENHOLME, B. N.; WHILEY, A. W. **The avocado: botany, production and uses**, 2nd ed. Wallingford, UK: CABI, p. 560, 2013.

SILVEIRA, M. R.; COUTINHO, N. M.; ESMERINO, E. A.; MORAES, J.; FERNANDES, L. M.; PIMENTEL, T. C.; ... CRUZ, A. G. Guava-flavored whey beverage processed by cold Plasma technology: bioactive compounds, fatty acid profile and volatile compounds. **Food Chemistry**, 2018.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, p. 144-158, 1965.

SUROWSKY, B.; BUBLER, S.; SCHLUTER, O. K. Cold Plasma Interactions With Food Constituents in Liquid and Solid Food Matrices. **Cold Plasma in Food and Agriculture**, Elsevier, 2016.

TABESHPOUR, J., RAZAVI, B. M., HOSSEINZADEH, H. Effects of Avocado (*Persea americana*) on Metabolic Syndrome: A Comprehensive Systematic Review . **Phytotherapy Research**, v. 31, p. 819–837, 2017.

TOLEDO, L. & AGUIRRE, C. Enzymatic browning in avocado (*Persea americana*) revisited: History, advances, and future perspectives. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 57, p.3860–3872, 2016.

THIRUMDAS, R.; ANNAPURE, U. S. Enzyme inactivation in model systems and food matrixes by cold plasma. **Advances in Cold Plasma Applications for Food Safety and Preservation**, p. 229–252, 2020.

USDA (U.S. Department of Agriculture). **Avocado, almond, pistachio and walnut Composition**. Nutrient Data Laboratory. USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 24. Washington, DC: U.S. Department of Agriculture, 2011.

VALE, B. S. **Análise da Viabilidade Econômica da Produção de Abacate**. Monográfica (Graduação Agronomia) Universidade de Brasília, 2017.

VAN, D. J., NIKIFIRIV, A., VANDAMME, J., LEYS, C., WINNE, A. Accelerated lipid oxidation using non-thermal plasma technology: evaluation of volatile compounds. **Food Research International**, v. 62, p. 868–876, 2014.

WANG, Y.; WANG, Z.; YUAN, Y.; GAO, Z.; GUO, K.; YUE, T. Application of gas phase surface discharge plasma with a spray reactor for *Zygosaccharomyces rouxii* LB inactivation in apple juice. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 52, p. 450–456, 2019.

WHITEHEAD, J. C. The Chemistry of Cold Plasma. **Cold Plasma in Food and Agriculture**. Elsevier, 2016.

WU, X.; BEECHER, G.R.; HOLDEN, J.M.; HAYTOWITZ, D.B.; GEBHARDT, S.E.; PRIOR, R. Lipophilic and hydrophilic antioxidant capacities of common foods in the United States. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 4026-4037, 2004.

XU, L.; GARNER, A.L.; TAO, B.; KEENER, K.M. Microbial inactivation and quality changes on orange juice treated by high voltage atmospheric cold plasma. **Food Bioprocess Technol.** 10 (10), 1778–1791, 2017.

YANNAM, S.K.; ESTIFAEE, P.; ROGERS, S.; THAGARD, S.M. Application of high voltage electrical discharge plasma for the inactivation of *Escherichia coli* ATCC 700891 in tangerine juice. **LWT Food Science and Technology**, v. 90, p. 180–185, 2018.

ZIUZINA, D., PATIL, S., CULLEN, P.J., KEENER, K.M., BOURKE, P. Atmospheric cold plasma inactivation of *Escherichia coli* in liquid media inside a sealed package. **Journal of Applied Microbiology**, v.114, n.3, p. 778-787, 2013.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos nesta dissertação foram submetidos no formato de artigo científico para publicação em revista Qualis A na área de Ciência e Tecnologia de Alimentos, desta forma, já se segue o modelo de formatação da revista.

**ARTIGO:** Efeitos do plasma frio na qualidade da polpa de abacate (*Persea americana* Mill.): características químicas e compostos bioativos

## **Efeitos do plasma frio na qualidade da polpa de abacate (*Persea americana* Mill): características químicas e compostos bioativos**

**Título em execução:** Qualidade da polpa de abacate (*Persea americana* Mill.) submetida a plasma frio

### **Resumo**

Este trabalho objetivou avaliar os efeitos do processamento de plasma frio sobre a atividade da polifenoloxidase (PPO), cor, índice de escurecimento, compostos bioativos, atividade antioxidante e perfil de ácidos graxos da polpa de abacate. Polpas de abacate com extrato de limão (PACE) e sem extrato de limão (PASE) foram submetidas ao tratamento com plasma variando o tempo (10, 20, 30 min) e fluxo de gás (10, 20 e 30 mL/min). As PACE apresentaram a menor atividade enzimática e manutenção da coloração em relação a PASE e polpas não tratadas com plasma (controle) ( $p < 0,05$ ). Efeitos positivos são observados no conteúdo de compostos fenólicos, carotenoides totais na PASE o tratamento com T1 e T2 (fluxo de gás 10 mL/10 e 30 min) e na PACE nos T3 e T8 (fluxo de gás 30 mL/10 min e 20 mL/30 min), contribuindo para atividade antioxidante nos ensaios de DPPH, ORAC-H e ORAC-L, respectivamente. Nenhum efeito foi verificado no perfil de ácidos graxos. Assim, concluir-se que o efeito sinérgico do extrato de limão na polpa de abacate junto com a tecnologia de plasma frio é eficiente para manutenção das características de qualidade da polpa e aumento no conteúdo de compostos bioativos.

**Palavras chave:** abacate, ácido graxo, atividade antioxidante, polifenoloxidase, tecnologia não térmica.

## 1 Introdução

O abacate (*Persea americana* Mill.) é um fruto tropical que destaca-se pelo alto conteúdo de lipídios, variando de 3 a 30%, sendo majoritariamente os ácidos graxos oléico, palmítico, linoléico e palmitoléico, além de vitaminas A, B, E e K, carotenoides, esteróis e, minerais como cálcio, magnésio e fósforo que contribuem para as propriedades antioxidantes (Fernández, Gutiérrez & Pancorbo, 2018; Rojo et al., 2019).

Evidências científicas demonstram benefícios à saúde como o potencial antidiabético (Tabeshpour, Razavi & Hosseinzadeh, 2017), hipolipemiante, anti-hiperlipidêmico, anti-obesidade, bactericida, antiviral e antiinflamatório (Fernández, Gutiérrez & Pancorbo, 2018) no consumo do abacate. Consequentemente, a procura do abacate e seus derivados vem aumentando (Araujo et al., 2018).

Entretanto, a agroindustrialização do fruto é um desafio devido suas características intrínsecas, como alta concentração de enzimas responsáveis pelo escurecimento enzimático propiciado pela polifenoloxidase (PPO), a qual catalisa a reação de oxidação dos o-difenóis na presença de oxigênio molecular, transformando-se em o-quinonas, as quais produzem pigmentos escuros (Dantas et al., 2018). A PPO presente no abacate possui uma alta atividade catalítica e uma resistência significativa aos tratamentos comuns de inibição – branqueamento, atmosfera modificada e outros – quando comparada em outras frutas (Toledo & Aguirre, 2016; Fuentes et al., 2018).

Pesquisas têm sido intensificadas em tecnologias para conservação e manutenção das características sensoriais e de qualidade da polpa de abacate (Fernández, Gutiérrez & Pancorbo, 2018) como o emprego da liofilização, pasteurização, congelamento, microondas (Alvarez et al., 2012), combinação de tecnologias com uso de aditivos químicos ou naturais (Batista, 2017) e, adição de extratos vegetais (Bustos, Mazzobre & Buera, 2015).

Atualmente, existe uma tendência na exploração de tecnologias não térmicas para atender à exigência do consumidor por alimentos mais seguros, sustentáveis e que mantenham a qualidade após processamento, como a homogeneização a alta pressão, plasma, pressurização com CO<sub>2</sub>, alta pressão hidrostática e outros (Pedrouso et al., 2019). A tecnologia de plasma frio vem se destacando por suas inúmeras vantagens correspondentes a uma maior vida de prateleira, inativação ou redução de atividade enzimática, baixo consumo de energia, menores custos de operação e impacto nulo ou mínimo nos atributos nutricionais e aumento nos compostos bioativos do alimento (Hati, Patel & Yadav, 2018).

Estudos com o plasma frio em suco de maçã turvo demonstraram uma significativa inativação da polifenoloxidase (PPO) (Illera et al., 2019). Por outro lado, a aplicação da tecnologia em sucos de frutas também apresentou efeitos sobre o conteúdo de compostos bioativos, ocorrendo um aumento ou redução desses dependendo das condições empregadas no processo (Paixão et al., 2018). Pesquisas com suco de acerola (Fernandes, Santos & Rodrigues, 2019) e maçã (Illera et al., 2019) mostraram que o plasma frio aumentou a concentração de carotenoides e fenólicos totais existentes. Todavia, até o momento, nenhum estudo foi encontrado que empregue a tecnologia do plasma frio no processamento da polpa de abacate.

Deste modo, o objetivo deste artigo foi avaliar o efeito da aplicação da tecnologia não térmica de plasma frio na atividade da polifenoloxidase, na cor, no conteúdo de compostos bioativos e ácidos graxos da polpa de abacate (*Persea americana* Mill.).

## 2 Materiais e métodos

### 2.1 Materiais

O ar sintético utilizado foi de pureza 99,95% (White Martins, Brasil). O metanol e ácido clorídrico foram obtidos de J.T. Baker (Phillipsburg, EUA). Os reagentes fosfato de potássio, polivinilpirrolidona (PVPP), acetona, carbonato de sódio, carbonato de cálcio, cloreto de potássio, cloreto de sódio e o cloreto de cálcio foram os da Dinâmica Química (São Paulo, Brasil). O Folin-Ciocalteu fornecido pela Sigma-Aldrich Chemical, S. A. (Milano, Itália). O fosfato de sódio e o carbonato de amônio foram obtidos da empresa Proquímicos (Rio de Janeiro, Brasil). O hexano e ácido gálico foram adquiridos da Química Moderna (São Paulo, Brasil). O fosfato monopotássico, o bicarbonato de sódio e cloreto de magnésio hidratado foram fornecidos pela Synth (São Paulo, Brasil). O ácido acético obtido da Anidrol (São Paulo, Brasil). O 2,2'-azobis-(2-methylpropionamidine)-dihydrochloride (AAPH), a ciclodextrina metilada randomizada (RMCD), o 2,2'-difenil-2-picril-hidrazil (DPPH •), e o hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxil (Trolox), foram obtidos pela Sigma-Aldrich Chemical, SA (Hamburgo, Alemanha). Outros reagentes utilizados foram de grau analítico.

### 2.2 Elaboração da polpa de abacate e tratamento a plasma frio

O abacate (*Persea americana* Mill) e limão (*Citrus latifolia*) foram adquiridos na maturidade comercial em um mercado local da cidade de Fortaleza-CE, Brasil. Os frutos do abacate foram descascados e a polpa triturada no processador de alimentos (Optimix Plus LN27, ARNO, Brazil). Duas polpas foram processadas, uma com adição de extrato de limão (PACE) a 0,5% conforme solicitação da propriedade intelectual BR 10 2017 025357 0 (Batista, 2017) e, outra

sem o extrato (PASE). Após o processamento, as polpas foram submetidas a tratamento em plasma frio (Venus PE100, Plasma Etch, Estados Unidos) de acordo com Fernandes, Santos e Rodrigues (2019) a um delineamento experimental (Tabela 1). Duas polpas foram processadas para o controle, sem uso do plasma frio, uma com adição de extrato de limão e outra sem adição de extrato.

**Tabela 1.** Delineamento experimental do tratamento com plasma frio aplicado em polpa de abacate

| Tratamentos | Tempo (min) | Fluxo de gás (mL/min) |
|-------------|-------------|-----------------------|
| T1          | 10          | 10                    |
| T2          | 30          | 10                    |
| T3          | 10          | 30                    |
| T4          | 30          | 30                    |
| T5          | 20          | 10                    |
| T6          | 20          | 30                    |
| T7          | 10          | 20                    |
| T8          | 30          | 20                    |
| T9          | 20          | 20                    |

### 2.3 Análise de cor

A cor das polpas foi analisada através do método instrumental com um colorímetro portátil (Konica Minolta Sensing, Inc., Osaka, Japan ), calibrado com um padrão branco. Os resultados foram expressos em croma ( $C^*$ ) Eq. (1), ângulo da matiz ( $h_a$ ) Eq. (2) (MCguire, 1992) e a diferença total da cor ( $\Delta E$ ) de acordo com a Eq. (3) (Papadakis et al., 2000).

$$C^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2} \quad (1)$$

$$h_a = \tan^{-1} \frac{b^*}{a^*} \quad (2)$$

$$\Delta E = (\Delta L^{*2} + \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2})^{0,5} \quad (3)$$

Onde:  $\Delta L$  = diferença de luminosidade entre amostras tratadas e controle;  $\Delta a$  = diferença da direção  $a^*$  entre amostras tratadas e controle e  $\Delta b^*$  = diferença da direção  $b^*$  entre amostras tratadas e controle.

O índice de escurecimento (IE) foi calculado usando o Eq. (4) (Maskan, 2001):

$$IE = \frac{100(x-0.31)}{0.172}, \text{ onde } x = + \frac{1.75L}{5.645L} + a - 3.012b \quad (4)$$

#### 2.4 Potencial hidrogeniônico (pH)

A determinação do pH da amostra foi efetuada utilizando um pHmetro digital (BEL, Monza, Itália), previamente calibrado com soluções tampões de pH 7,0 e 4,0 (AOAC, 1995).

#### 2.5 Atividade da polifenoloxidase

A polifenoloxidase foi extraída de acordo com adaptações de Jesus, Leite e Cristianini (2018), com algumas modificações. Foi pesado 10 g de polpa de abacate e misturou com 50 mL de tampão fosfato de potássio 0,1 M, pH 6,5, contendo polivinilpirrolidona a 0,5% (PVPP). Para a atividade da PPO, 100  $\mu$ L de extrato enzimático foram misturados com 0,7 mL de catecol (0,2 M) e 2,3 mL de tampão fosfato de sódio (pH 6,5/0,1 M). A atividade da PPO foi determinada em um fluorímetro (Fluorstar Omega, BMG LABTECH, Germany) com leitura de 420 nm a

25 ° C por 15 min. A atividade enzimática relativa (REA) foi calculada pela Eq. (5) (Oktay et al., 1995).

$$(RA\%) = 100 * \frac{A}{A_0} \quad (5)$$

Onde: A = é a atividade PPO inicial; A<sub>0</sub> = é a atividade enzimática em um dado momento.

## 2.6 Atividade antioxidante

### 2.6.1 Extração das frações

A extração da fração lipofílica e hidrofílica foram obtidas pelo método utilizado por Prior et al. (2003), com algumas modificações. Para o extrato lipofílico, pesou 5 g de polpa e a diluiu em 5 mL de hexano. A solução foi agitada a 3800 rpm por 2 min em vortex (VX – 38, Warmnest, Brazil) e então, ultrassonicada por 30 min à temperatura ambiente (USC – 180, UNIQUE, Brazil). Em seguida, a solução foi centrifugada por 15 min a 4°C em 5000 rpm (5430 R, Eppendorf, Hamburg, Germany). Após, o sobrenadante foi recolhido e o procedimento repetido por duas vezes. Os sobrenadantes foram combinados e rotaevaporado (RV3 V, IKA, São Paulo, Brasil). Ressuspendeu com 1 mL de hexano, guardando o extrato obtido em frasco âmbar e o congelando para ser utilizado na atividade antioxidante do método de ORAC - Lipofílico.

Com o resíduo da extração lipofílica, 5 mL de uma solução com acetona, água e ácido acético (70: 29.5: 0,5) e seguiu as mesmas condições descritas para a extração da fração lipofílica. Por fim, os extratos foram reunidos e avolumados com solução de acetona, água e ácido acético a um volume final de 20 mL. Com este extrato, realizou-se a atividade antioxidante pelo método ORAC – Hidrofílico, DPPH e fenólicos totais.

## 2.6.2 Capacidade de absorção dos radicais oxigenados (ORAC)

### 2.6.2.1 ORAC – H

A atividade antioxidante da fração hidrofílica utilizou a metodologia adaptada por Dávalos, Cordovés e Bartolomé (2004), com algumas modificações onde, adicionou-se 20 µL de extrato, os quais foram homogeneizados com 120 µL de fluoresceína (61.2 nM), agitados a 1900 rpm por 3 min (VX – 38, Warmnest, Brazil), sendo posteriormente incubadas por 30 min a 37°C. Após o tempo de 30 min, acrescentou-se nas microplacas 60 µL de solução AAPH (19 mM). A intensidade de fluorescência (excitação = 485 nm/20 nm e emissão= 528/20 nm) foi verificada (Fluorstar Omega, BMG LABTECH, Germany) em modo cinético com leitura em intervalos de 1 min, até que o valor da fluorescência fosse inferior ou igual a 0,5% da inicial. A atividade antioxidante foi expressa em µmol de equivalente trolox por 100g de polpa (µmol TE 100g<sup>-1</sup> de polpa).

### 2.6.2.1 ORAC – L

A atividade antioxidante por ORAC da fração lipofílica foi pelo método utilizado por Prior et al. (2003) e Wu et al. (2004), os quais sofreram modificações. Preparou-se uma concentração de 10 mg/mL (p/v) de amostra e diluiu com solução de ciclodextrina metilada randomizada a 7% (RMCD) em solução acetona:água (1:1), seguido de ultrassonicação (USC – 180, UNIQUE, Brasil) a 10°C durante 30 min. O sistema de reação da microplaca foi composto de 20µL de amostra, 120 µL de solução de fluoresceína e, em seguida, com incubação de 30 min a 37°C, depois adicionou-se na placa 120 µL de AAPH a uma temperatura constante de 37°C. A intensidade de fluorescência (excitação = 485nm e emissão = 520nm) foi verificada a cada ciclo

de 60 segundos, durante 80 ciclos em leitor de microplacas. A atividade antioxidante foi expressa em  $\mu\text{mol}$  de equivalente trolox por 100g de polpa ( $\mu\text{mol TE } 100\text{g}^{-1}$  de polpa).

## 2.7 Capacidade de sequestro do DPPH•

A atividade antioxidante pelo método DPPH• (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) foi realizado de acordo com Rufino et al. (2009). O sistema da reação foi composto pelo controle (20  $\mu\text{L}$  de água destilada); branco (200  $\mu\text{L}$  de metanol 80%); curva Trolox (20  $\mu\text{L}$  de Trolox - diferentes concentrações) e 20  $\mu\text{L}$  de extrato provenientes das polpas, sendo posteriormente incubadas por 30 min a temperatura ambiente. Após o tempo de incubação, adicionou-se 180  $\mu\text{L}$  de solução DPPH (80  $\mu\text{M}$ ) e a absorbância lida em 544 nm (Fluorstar Omega, BMG LABTECH, Germany). Os resultados foram apresentados pela concentração em gramas da amostra inibir 50% no radical DPPH• (EC50), e os valores expressos em g da polpa/g DPPH•.

## 2.8 Fenólicos totais

A quantidade de fenólicos totais foi determinada de acordo com o método de Folin-Ciocalteu (Singleton & Rossi, 1965) com modificações. Cerca de 100  $\mu\text{L}$  extrato da polpa foi diluído em 2 mL de água e submetido ao mesmo procedimento para a preparação da curva de calibração. Uma curva de ácido gálico foi preparada com concentrações de 0 – 500 ppm e retirou 100  $\mu\text{L}$  de cada uma dessas concentrações, adicionando 2 mL de água deionizada, 0,5 mL de reativo Folin-Ciocalteu e 1,5 mL de carbonato de sódio. A absorbância foi medida após 2h a 765 nm e 25 °C (SP 22, Biospectro, Curitiba, Brazil). O teor total de fenólicos foi expresso em equivalentes de ácido gálico (GAE) em mg/100g de extrato.

## 2.9 Carotenoides totais

Para a quantificação de carotenoides, utilizou-se o método proposto por Lichtenthaler (1987), com algumas modificações. Pesou-se 0,2 g polpa, 0,2 g de carbonato de cálcio e diluiu com 3 mL de acetona 80%, agitando a mistura a 3800 rpm em vortex (VX – 38, Warmnest, Brazil ). Logo após, verteu-se o extrato em um tubo, o qual posteriormente lavou o resíduo com 2 mL de acetona para completar um volume final de 5 mL. Em seguida, a solução foi centrifugada a 10°C por 10 min em uma rotação de 3000 rpm (5430 R, Eppendorf, Hamburg, Germany), coletando o sobrenadante. A leitura no espectro (SP 22, Biospectro, Curitiba, Brazil) foi realizada no escuro com os seguintes comprimentos de onda: 470 nm, 646 nm e 663 nm. A concentração de carotenoide foi expressa em mg/100g de amostra e, calculada por meio das seguintes Eq. (6) (7) (8). Onde, D = diluição final (mL); m = massa (g) da amostra; Ca = clorofila a; Cb = clorofila b.

$$\text{Clorofila a } \left( \frac{\text{mg}}{100\text{g}} \right) = \frac{[(12.21 * A_{663} - 2.81 * A_{646}) * D]}{(m * 1000)} \quad (6)$$

$$\text{Clorofila b } \left( \frac{\text{mg}}{100\text{g}} \right) = \frac{[(20.13 * A_{646} - 5.03 * A_{663}) * D]}{(m * 1000)} \quad (7)$$

$$\text{Carotenoides totais } \left( \frac{\text{mg}}{100\text{g}} \right) = \frac{[(1000 * A_{470} - 1.82 \text{ Ca} - 85.02 \frac{\text{Cb}}{198})]}{(m * 1000)} \quad (8)$$

## 2.10 Perfil de Ácidos Graxos

Para a obtenção dos lipídios presentes nas polpas, utilizou-se o método de extração lipídica por Biligh & Dyer (1959). A esterificação do extrato lipídico foi realizada pelo método de Hartmann e Lago (1973) e o extrato seco foi ressuspensionado com 1 mL de hexano e injetado em

cromatógrafo gasoso (VARIAN 430-GC, California, USA) com detector de ionização de chama (DIC); coluna capilar de sílica fundida (SP TM – 2560, SUPELCO, Bellefonte, EUA) com dimensões de 100m x 0,25mm e 0,25µm de espessura do filme e hélio como gás de arraste (vazão de 1 mL/min). Os resultados dos ácidos graxos foram quantificados por normalização das áreas dos ésteres metílicos e expressos em percentual de área (%).

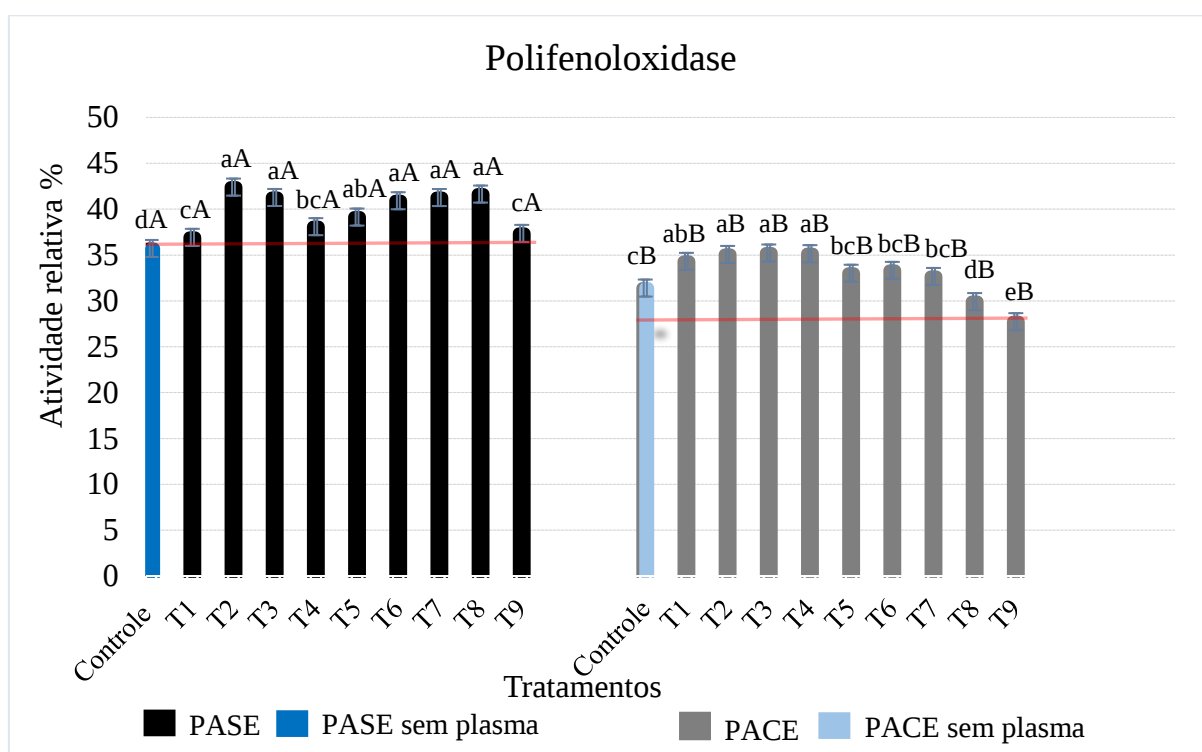
### *2.11 Análise estatística*

Para análise estatística, os dados foram tabulados e organizados em tabelas do programa Excel. Posteriormente, os mesmos foram transferidos para o pacote computadorizado STATISTICA, versão 7. Os resultados foram analisados por meio do teste de Tukey e t-Student, considerando o nível de significância de  $p \leq 0,05$  e nível de confiança de 95%.

### 3 Resultados e discussão

#### 3.1 Atividade da polifenoloxidase e pH

Este estudo evidencia que o plasma frio possui efeito na atividade enzimática variando de acordo com as condições de intensidade e tempo de exposição ( $p < 0,05$ ) (Figura 1).



**Figura 1.** Atividade relativa da polifenoloxidase presente na PASE e PASE submetidas a plasma frio. Letras minúsculas diferentes mostram diferença estatística para o teste de Tukey ( $p < 0,05$ ) na aplicação de tratamento para a mesma polpa. Letras maiúsculas diferentes mostram diferença estatística entre as polpas com e sem adição de extrato de limão para o teste t de Student ( $p < 0,05$ ).

Na PASE, observa-se um aumento na atividade enzimática da polifenoloxidase em comparação ao controle em todas as condições de tratamento aplicadas ( $p < 0,05$ ). Nossos resultados demonstram que a aplicação da tecnologia na PASE contribui para um aumento da atividade enzimática devido a ruptura da parede celular com a liberação de enzimas e seus substratos,

ocorrendo a interação dos constituintes alimentares, induzindo a oxidação, epimerização e degradação de compostos (Rodríguez et al., 2017; Paixão et al., 2018; Lorenzo et al., 2019).

Já a PACE, apesar de ser observado um aumento da atividade enzimática em relação a polpa controle ( $p < 0,05$ ) para quase todos os tratamentos aplicados, em comparação a PASE, observamos uma menor atividade enzimática comparando as mesmas condições de tratamento ( $p < 0,05$ ), tal fato pode ser explicado pela redução do pH da polpa, devido a adição do extrato de limão, tornando-a um pouco mais ácida conforme descrito na Tabela 2, reduzindo a ação da polifenoloxidase, pela complexação do grupo  $\text{Cu}^{+2}$  presente no seu sítio ativo (Hati, Patel & Yadav, 2018). No entanto, estudos preliminares deste grupo de pesquisa (dados não divulgados) com a análise sensorial da PACE demonstra que essa variação de pH, não modifica o sabor da polpa, sendo imperceptível pelo consumidor.

**Tabela 2.** pH da polpa de abacate após tratamento com plasma frio

| Tratamentos | Polpa sem extrato de limão - PASE | Polpa com extrato de limão - PASE |
|-------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
|             | pH                                |                                   |
| Controle    | $5,35 \pm 0,10^{\text{gA}}$       | $4,10 \pm 0,02^{\text{hB}}$       |
| T1          | $5,42 \pm 0,04^{\text{fA}}$       | $4,20 \pm 0,05^{\text{gB}}$       |
| T2          | $5,45 \pm 0,05^{\text{dA}}$       | $4,30 \pm 0,10^{\text{fB}}$       |
| T3          | $5,88 \pm 0,10^{\text{aA}}$       | $4,58 \pm 0,04^{\text{aB}}$       |
| T4          | $5,42 \pm 0,05^{\text{fA}}$       | $4,32 \pm 0,10^{\text{eB}}$       |
| T5          | $5,43 \pm 0,16^{\text{eA}}$       | $4,40 \pm 0,02^{\text{dB}}$       |
| T6          | $5,45 \pm 0,25^{\text{dA}}$       | $4,41 \pm 0,03^{\text{cB}}$       |
| T7          | $5,78 \pm 0,20^{\text{cA}}$       | $4,52 \pm 0,10^{\text{bB}}$       |
| T8          | $5,78 \pm 0,15^{\text{cA}}$       | $4,04 \pm 0,02^{\text{iB}}$       |
| T9          | $5,81 \pm 0,10^{\text{bA}}$       | $4,00 \pm 0,10^{\text{iB}}$       |

As médias seguidas por letras minúsculas diferentes nas colunas são estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). As médias seguidas de letras maiúsculas diferentes nas linhas entre PACE e PASE para o mesmo parâmetro são estatisticamente diferentes pelo teste t de Student ( $p < 0,05$ ).

Os tratamentos T8 e T9, apresentaram uma redução na sua atividade de 5% e 11%, respectivamente, o que pode ser explicado devido ao efeito sinérgico da redução do pH e os maiores tempo de tratamento e fluxo de gás (fluxo de gás 20mL/30 e 20 min, respectivamente), resultando na formação de radicais livres e, conseqüentemente, potencializando a ruptura da parede celular (Herceg et al., 2016; Misra & Jo, 2017; Paixão et al., 2018). Com a liberação de enzimas e a interação dessas com os radicais livres, o sítio ativo da polifenoloxidase sofre alterações estruturais e mudanças na sua conformação, provocando perda da sua atividade (Hati, Patel & Yadav, 2018).

Nossos resultados ratificam os efeitos do plasma frio na atividade enzimática já demonstrados em suco de maçã, com a redução da atividade residual da polifenoloxidase em torno de 16 e 27,6% após 5 e 4 min de tratamento (Illera et al., 2019), como também em suco de seriguela onde, atividade desta mesma enzima foi reduzida com aplicação da tecnologia (Paixão et al., 2018). Entretanto, vale ressaltar a diferença entre o pH de 3,73 do suco de maçã (Illera et al., 2019) e 2,85 do de seriguela (Paixão et al., 2018), ambas frutas ácidas, quando comparadas ao pH elevado (5,35) da polpa de abacate, além desse apresentar alta concentração de enzimas, que juntos são fatores capazes de distinguir a ação da tecnologia de plasma frente a atividade da polifenoloxidase. Diferentes resultados são encontrados para atividade enzimática quando se estuda tecnologias não térmicas, uma vez que essa é influenciada pela intensidade do tempo e modo de exposição, composição do gás, entrada elétrica, degradação de enzimas ou de substratos e características da matriz alimentar (Paixão et al., 2018).

### *3.2 Cor*

Na tabela 3, observa-se uma variação em todos os parâmetros de cor em relação a controle.

**Tabela 3.** Parâmetros instrumentais de cor e índice de escurecimento da polpa de abacate após tratamento com plasma frio

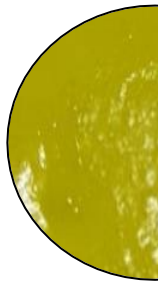
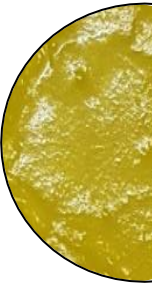
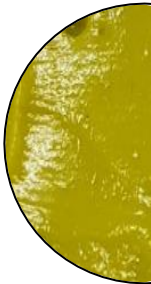
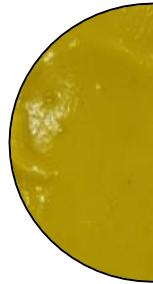
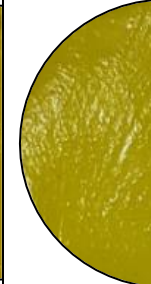
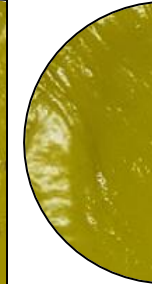
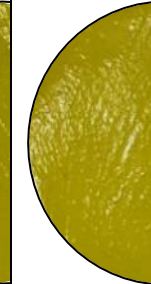
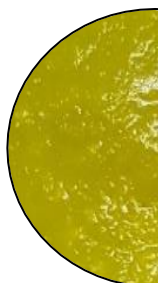
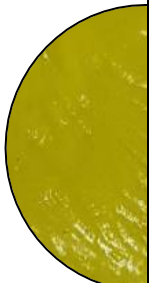
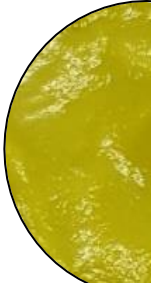
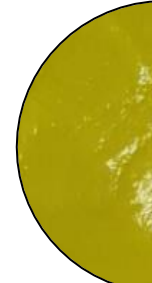
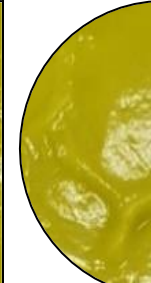
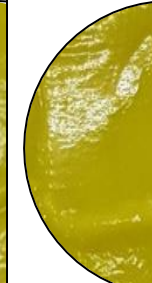
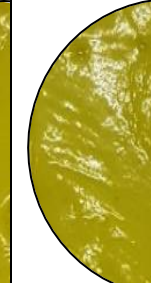
| Tratamentos | Polpa sem extrato de limão - PASE |                             |                             |                             |                              |                            |                              |
|-------------|-----------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|------------------------------|----------------------------|------------------------------|
|             | (L*)*                             | (a*)**                      | (b*)***                     | (C*)****                    | (h <sub>a</sub> )*****       | (ΔE)*****                  | (IE)*****                    |
| Controle    | 63,53 ± 1,37 <sup>aA</sup>        | -17,31 ± 0,11 <sup>aA</sup> | 48,66 ± 0,43 <sup>aA</sup>  | 51,65 ± 1,38 <sup>aA</sup>  | -70,01 ± 0,41 <sup>gA</sup>  | -                          | 100,98 ± 2,42 <sup>dA</sup>  |
| T1          | 61,02 ± 0,65 <sup>bA</sup>        | -11,24 ± 0,09 <sup>eA</sup> | 45,57 ± 0,71 <sup>cdA</sup> | 46,94 ± 0,71 <sup>deA</sup> | -76,26 ± 0,14 <sup>bcA</sup> | 7,42 ± 1,17 <sup>abA</sup> | 103,23 ± 4,80 <sup>bcA</sup> |
| T2          | 61,74 ± 0,39 <sup>bA</sup>        | -12,06 ± 0,38 <sup>dA</sup> | 47,14 ± 0,84 <sup>bcA</sup> | 48,66 ± 0,90 <sup>bcA</sup> | -75,58 ± 0,25 <sup>dA</sup>  | 6,07 ± 1,05 <sup>bA</sup>  | 106,71 ± 1,01 <sup>bcA</sup> |
| T3          | 60,79 ± 0,37 <sup>cA</sup>        | -15,83 ± 0,21 <sup>bA</sup> | 48,26 ± 0,84 <sup>aA</sup>  | 50,79 ± 1,61 <sup>abA</sup> | -71,61 ± 0,52 <sup>fA</sup>  | 4,05 ± 0,95 <sup>cA</sup>  | 105,08 ± 2,01 <sup>bcA</sup> |
| T4          | 61,13 ± 1,76 <sup>abA</sup>       | -11,50 ± 0,16 <sup>fA</sup> | 46,32 ± 1,34 <sup>bcA</sup> | 47,73 ± 1,33 <sup>cdA</sup> | -76,04 ± 0,24 <sup>cA</sup>  | 7,22 ± 2,16 <sup>abA</sup> | 109,80 ± 3,21 <sup>aA</sup>  |
| T5          | 62,41 ± 0,69 <sup>aA</sup>        | -11,23 ± 0,02 <sup>fA</sup> | 46,29 ± 0,35 <sup>cA</sup>  | 47,63 ± 0,35 <sup>dA</sup>  | -76,38 ± 0,06 <sup>bA</sup>  | 6,88 ± 0,93 <sup>bA</sup>  | 102,28 ± 2,67 <sup>cA</sup>  |
| T6          | 59,07 ± 0,20 <sup>dA</sup>        | -10,44 ± 0,19 <sup>gA</sup> | 44,25 ± 0,88 <sup>dA</sup>  | 45,46 ± 0,90 <sup>eA</sup>  | -76,72 ± 0,08 <sup>aA</sup>  | 9,52 ± 1,50 <sup>aA</sup>  | 104,54 ± 3,99 <sup>bcA</sup> |
| T7          | 61,06 ± 0,60 <sup>bA</sup>        | -15,68 ± 0,50 <sup>bA</sup> | 47,52 ± 1,36 <sup>abA</sup> | 50,04 ± 1,44 <sup>abA</sup> | -71,72 ± 0,11 <sup>fA</sup>  | 3,37 ± 1,53 <sup>cA</sup>  | 104,95 ± 2,34 <sup>bcA</sup> |
| T8          | 62,70 ± 0,62 <sup>aA</sup>        | -15,42 ± 0,33 <sup>bA</sup> | 45,75 ± 1,01 <sup>cA</sup>  | 48,28 ± 0,18 <sup>cA</sup>  | -71,37 ± 0,37 <sup>fA</sup>  | 3,65 ± 1,12 <sup>cA</sup>  | 102,92 ± 1,30 <sup>cA</sup>  |
| T9          | 61,02 ± 1,23 <sup>abA</sup>       | -14,82 ± 0,19 <sup>cA</sup> | 46,14 ± 1,19 <sup>bcA</sup> | 48,04 ± 0,71 <sup>cA</sup>  | -72,36 ± 0,70 <sup>eA</sup>  | 4,72 ± 1,28 <sup>bcA</sup> | 100,19 ± 2,42 <sup>dA</sup>  |
| Tratamentos | Polpa com extrato de limão - PACE |                             |                             |                             |                              |                            |                              |
|             | (L*)*                             | (a*)**                      | (b*)***                     | (C*)****                    | (h <sub>a</sub> )*****       | (ΔE)*****                  | (IE)*****                    |
| Controle    | 65,12 ± 1,07 <sup>aA</sup>        | -17,16 ± 0,15 <sup>aA</sup> | 48,57 ± 0,39 <sup>aA</sup>  | 51,51 ± 0,42 <sup>aA</sup>  | -70,90 ± 0,08 <sup>cA</sup>  | -                          | 99,60 ± 2,51 <sup>abA</sup>  |
| T1          | 64,85 ± 3,38 <sup>abA</sup>       | -15,70 ± 0,53 <sup>bB</sup> | 47,36 ± 1,40 <sup>abA</sup> | 49,74 ± 0,46 <sup>bB</sup>  | -71,66 ± 0,16 <sup>bB</sup>  | 4,81 ± 0,13 <sup>aB</sup>  | 83,54 ± 2,42 <sup>eB</sup>   |
| T2          | 62,67 ± 0,49 <sup>bA</sup>        | -14,75 ± 0,13 <sup>cB</sup> | 46,66 ± 1,08 <sup>bcA</sup> | 48,93 ± 1,06 <sup>bcA</sup> | -72,40 ± 0,26 <sup>aB</sup>  | 3,70 ± 0,85 <sup>bB</sup>  | 97,83 ± 3,30 <sup>bB</sup>   |
| T3          | 64,38 ± 1,65 <sup>abB</sup>       | -14,91 ± 0,04 <sup>cA</sup> | 47,67 ± 0,39 <sup>bB</sup>  | 49,94 ± 0,36 <sup>bA</sup>  | -72,62 ± 0,17 <sup>aA</sup>  | 3,02 ± 0,11 <sup>bB</sup>  | 97,08 ± 2,55 <sup>bB</sup>   |
| T4          | 63,00 ± 1,12 <sup>bA</sup>        | -15,78 ± 0,24 <sup>bB</sup> | 47,91 ± 0,99 <sup>bA</sup>  | 49,23 ± 1,01 <sup>bcA</sup> | -71,20 ± 0,23 <sup>bB</sup>  | 3,81 ± 0,18 <sup>bB</sup>  | 93,78 ± 2,18 <sup>cB</sup>   |
| T5          | 62,23 ± 0,32 <sup>bA</sup>        | -15,49 ± 0,36 <sup>bB</sup> | 47,05 ± 1,28 <sup>bA</sup>  | 49,23 ± 1,33 <sup>bcB</sup> | -71,27 ± 0,45 <sup>bB</sup>  | 3,54 ± 0,73 <sup>bB</sup>  | 100,17 ± 2,39 <sup>abB</sup> |
| T6          | 62,99 ± 0,68 <sup>bA</sup>        | -15,36 ± 0,15 <sup>bB</sup> | 46,15 ± 0,58 <sup>cB</sup>  | 48,64 ± 0,59 <sup>cB</sup>  | -71,55 ± 0,09 <sup>bB</sup>  | 3,54 ± 0,96 <sup>bB</sup>  | 93,89 ± 1,52 <sup>cB</sup>   |
| T7          | 63,37 ± 1,24 <sup>bB</sup>        | -15,32 ± 0,19 <sup>bA</sup> | 45,75 ± 1,06 <sup>cB</sup>  | 48,21 ± 1,06 <sup>bcB</sup> | -71,47 ± 0,28 <sup>bA</sup>  | 3,88 ± 0,84 <sup>bB</sup>  | 91,24 ± 3,12 <sup>bB</sup>   |
| T8          | 62,89 ± 0,96 <sup>bA</sup>        | -14,68 ± 0,27 <sup>cB</sup> | 46,39 ± 2,06 <sup>bcA</sup> | 48,66 ± 0,45 <sup>cA</sup>  | -72,44 ± 0,30 <sup>aB</sup>  | 3,87 ± 0,87 <sup>bB</sup>  | 86,20 ± 2,35 <sup>dB</sup>   |
| T9          | 63,24 ± 0,96 <sup>bA</sup>        | -15,32 ± 0,18 <sup>bA</sup> | 47,41 ± 0,59 <sup>bB</sup>  | 49,82 ± 0,61 <sup>bB</sup>  | -71,89 ± 0,29 <sup>bB</sup>  | 2,73 ± 0,70 <sup>bB</sup>  | 98,54 ± 1,12 <sup>bB</sup>   |

As médias seguidas por letras minúsculas diferentes nas colunas são estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). As médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na mesma coluna entre PACE e PASE para o mesmo parâmetro são estatisticamente diferentes pelo teste t de Student ( $p < 0,05$ ). (L\*)\*: luminosidade. \*\*(a\*): direção para o verde. \*\*\*(b\*): direção para amarelo. \*\*\*\*(C\*): croma. \*\*\*\*\*( $h_a$ ): ângulo da matriz de tonalidade. \*\*\*\*\*( $\Delta E$ ): diferença total da cor. \*\*\*\*\*( $IE$ ): índice de escurecimento.

Entretanto, pequenas variações nesses parâmetros são imperceptíveis ao olho nu, conforme apresentado na Figura 2.

A PASE mostrou sofrer uma influência negativa na coloração com a aplicação da tecnologia de plasma quando comparada a PACE (Figura 2). Este resultado pode ser explicado pelo aumento da atividade da polifenoloxidase devido a maior exposição de substratos (pela aplicação do plasma) devido a ruptura da célula vegetal, com formação das melaninas que são responsáveis pela coloração escura dos tecidos (Rodríguez et al., 2017; Paixão et al., 2018), portanto, associada ao aumento de até 8% no índice de escurecimento (IE) apresentado para o T4 (fluxo de gás 30mL/30 min). Por outro lado, PACE apresentaram uma redução de até 16% no T1 (fluxo de gás 10mL/10 min) no índice de escurecimento (IE) diferindo em relação ao controle ( $p < 0,05$ ), também pode se observar pequenas variações na coloração, conforme Figura 2, devido provavelmente ao efeito sinérgico do extrato de limão com a tecnologia de plasma reduzindo a atividade da polifenoloxidase, (Tabela 2).

A saturação ou intensidade da cor ( $C^*$ ) das polpas variaram com as condições de tratamento, sendo observada, sobretudo na PASE (T1, T2, T4, T5 e T6) devido a reação de escurecimento porém, a PACE manteve o brilho e atratividade porque não houve escurecimento pronunciado e, os T8 e T9 (fluxo de gás 20mL/30 e 20 min, respectivamente), foram os tratamentos que apresentaram menor atividade enzimática. Já para o ângulo de matiz ( $h_a$ ), percebe-se curta variação (2%) após tratamento aplicado na PACE e, a cor esverdeada foi mantida (Figura 2). Para PASE, devido ao escurecimento após alguns tratamentos (T1, T2, T4, T5 e T6), apresentaram maior variação (6%) da tonalidade particular da matriz, resultando em uma coloração amarronzada (Figura 2). Com relação a diferença total da cor ( $\Delta E$ ), os resultados obtidos para a PACE foram um pouco acima do limite ( $\Delta E > 3$ ) de percepção ótica do ser humano, segundo Paixão et al. (2018). Contudo, esses valores permaneceram quase que na sua

| Cor das polpas tratadas com plasma frio |                                                                                   |                                                                                   |                                                                                   |                                                                                    |                                                                                     |                                                                                     |                                                                                     |                                                                                     |                                                                                     |                                                                                     |
|-----------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
| Tratamentos                             | Controle                                                                          | T1                                                                                | T2                                                                                | T3                                                                                 | T4                                                                                  | T5                                                                                  | T6                                                                                  | T7                                                                                  | T8                                                                                  | T9                                                                                  |
| Polpa sem extrato de limão              |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| Polpa com extrato de limão              |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |

**Figura 2.** Coloração da polpa de abacate após tratamento com plasma frio.

totalidade na faixa de  $\Delta E = 3$  e 3,88, não sendo possível a captação de alterações na coloração das polpas tratadas em relação a polpa controle (Figura 2). Para a PASE a diferença total da cor foi mais acentuada (T1, T2, T4, T5 e T6), uma vez que essa variável é dependente dos parâmetros ( $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ ) que também apresentaram maior diferença quando comparada a controle ( $p < 0,05$ ), resultando em uma coloração mais escura. Esses resultados evidenciam que mesmo com diferença estatística nos parâmetros de cor entre as PACE sob tratamento e a controle ( $p < 0,05$ ), ainda assim manteve-se a cor padrão da polpa de abacate.

### 3.3 Compostos bioativos

Na Tabela 4, podemos observar a concentração dos compostos bioativos, fenólicos e carotenoides totais, presentes nas polpas de abacate sob plasma frio.

**Tabela 4.** Compostos bioativos na polpa de abacate após tratamento com plasma frio

| Tratamentos | Polpa sem extrato de limão -<br>PASE |                           | Polpa com extrato de limão -<br>PACE |                            |
|-------------|--------------------------------------|---------------------------|--------------------------------------|----------------------------|
|             | Fenólicos totais *                   | Carotenoides totais **    | Fenólicos totais *                   | Carotenoides totais **     |
| Controle    | 19,53 ± 0,23 <sup>cA</sup>           | 2,94 ± 0,02 <sup>dA</sup> | 23,56 ± 0,45 <sup>cB</sup>           | 2,75 ± 0,04 <sup>dB</sup>  |
| T1          | 15,02 ± 0,18 <sup>dA</sup>           | 5,47 ± 0,08 <sup>aA</sup> | 3,47 ± 0,45 <sup>hB</sup>            | 2,51 ± 0,01 <sup>efB</sup> |
| T2          | 23,20 ± 0,44 <sup>aA</sup>           | 2,86 ± 0,01 <sup>dA</sup> | 2,76 ± 0,10 <sup>iB</sup>            | 2,42 ± 0,02 <sup>gB</sup>  |
| T3          | 6,34 ± 0,45 <sup>eA</sup>            | 4,56 ± 0,01 <sup>bA</sup> | 4,33 ± 0,62 <sup>fB</sup>            | 3,46 ± 0,01 <sup>aB</sup>  |
| T4          | 3,47 ± 0,35 <sup>gA</sup>            | 2,48 ± 0,02 <sup>eA</sup> | 2,05 ± 0,37 <sup>gB</sup>            | 2,26 ± 0,01 <sup>Hb</sup>  |
| T5          | 20,55 ± 0,40 <sup>bA</sup>           | 1,48 ± 0,02 <sup>fA</sup> | 10,92 ± 0,31 <sup>eB</sup>           | 2,87 ± 0,01 <sup>bcB</sup> |
| T6          | 6,62 ± 0,60 <sup>fA</sup>            | 4,89 ± 0,06 <sup>bA</sup> | 18,42 ± 0,72 <sup>dB</sup>           | 1,90 ± 0,03 <sup>iB</sup>  |
| T7          | 6,13 ± 0,47 <sup>fA</sup>            | 2,78 ± 0,00 <sup>dA</sup> | 22,69 ± 0,58 <sup>cB</sup>           | 2,78 ± 0,02 <sup>cdA</sup> |
| T8          | 5,81 ± 0,61 <sup>fA</sup>            | 3,09 ± 0,00 <sup>eA</sup> | 28,80 ± 0,92 <sup>aB</sup>           | 2,58 ± 0,07 <sup>eB</sup>  |
| T9          | 11,54 ± 0,57 <sup>eA</sup>           | 3,17 ± 0,01 <sup>eA</sup> | 25,29 ± 0,88 <sup>bB</sup>           | 2,94 ± 0,02 <sup>bB</sup>  |

As médias seguidas por letras minúsculas diferentes nas colunas são estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). As médias seguidas de letras maiúsculas diferentes nas linhas entre amostras PACE e PASE para o mesmo parâmetro são estatisticamente diferentes pelo teste t de Student ( $p < 0,05$ ). Resultados expressos em \* mg AG / 100g; mg de ácido gálico equivalente por 100g de polpa. \*\* mg / 100g; mg de equivalente carotenoide por 100g de polpa.

#### 3.3.1 Fenólicos totais

Os tratamentos com plasma frio influenciaram diretamente o conteúdo de fenólicos diferindo entre as condições aplicadas ( $p < 0,05$ ) (Tabela 4). Na PASE o T2 (fluxo de gás de 10 mL /30min) e o T5 (fluxo de gás de 10 mL /20min) apresentaram maior conteúdo de fenólicos totais ( $p < 0,05$ ), já para a PACE, o maior teor de fenólicos foi observado nos T8 (fluxo de gás de 20 mL/30min) e T9 (fluxo de gás de 20 mL/20min). Em ambos tratamentos, aplicou-se maior

tempo de exposição ao plasma, desta forma, o acréscimo do tempo no T2, aumentou 18%, 5% no T5 da PASE e, 22% no T8 e 7% no T9 da PACE.

Estes resultados podem ser explicados porque maiores tempos de processamento aumentam o número de colisões devido à alta carga elétrica desenvolvida intrinsecamente (Herceg et al., 2016; Misra & Jo, 2017), ocorrendo então a liberação dos fenólicos existentes nos vacúolos celulares devido a dissolução e despolimerização de polissacarídeos da parede celular, tornando-os disponíveis, aumentando sua quantidade total nas matrizes (Rodríguez et al., 2017). Além disso, com um menor fluxo de gás, as espécies reativas que interagem com o alimento apresentam efeito mais brando sobre a degradação de compostos (Paixão et al., 2018). Resultados semelhantes foram encontrados por Paixão et al. (2018), no estudo sobre os efeitos do plasma frio no suco de seriguela, observaram um aumento de 58% no conteúdo de fenólicos totais no ensaio conduzido aos 15 min. Verificando a ação do plasma frio na qualidade do suco de mirtilo, Hou e colaboradores (2019), obtiveram um aumento no teor de compostos fenólicos totais com o acréscimo do tempo de tratamento. O mesmo foi observado no suco de maçã, com um aumento de 64% quando adicionaram mais tempo de tratamento (Illera et al., 2019).

Quando foi comparado o comportamento das polpas para os mesmos tratamentos, pode-se observar uma diferença estatística ( $p < 0,05$ ) principalmente na PACE submetida aos tratamentos T6, T7, T8 e T9, apresentando conteúdo de fenólicos totais superiores aos mesmos tratamentos aplicados na PASE. A alteração do pH pela adição do extrato de limão e redução da atividade da polifenoloxidase pode ter favorecido na manutenção e/ou aumento dos fenólicos liberados pela célula. Além do que, segundo Ribeiro et al. (2018), condições ácidas aumentam a solubilidade de fenólicos devido à ruptura da parede celular, aumentando a extração.

### 3.3.2 Carotenoides totais

A aplicação do plasma nas polpas de abacate apresentou efeitos distintos no conteúdo de carotenóides dependendo das condições empregadas no tratamento ( $p < 0,05$ ). Na PASE o T1 (fluxo de gás de 10 mL/10 min) obteve um aumento de 86 % no conteúdo de carotenoides comparado ao controle ( $p < 0,05$ ). No entanto, o T3 (fluxo de gás de 30 mL/10 min) e o T6 (fluxo de gás de 30 mL/20 min) também tiveram um aumento de 55% e 66%, respectivamente. Já para a PACE submetida ao T3 um aumento de 25% de carotenoides totais foi observado.

Os tratamentos T1 da PASE e o T3 da PACE apresentaram maiores conteúdos de carotenoides ( $p < 0,05$ ), estes tratamentos utilizaram o menor tempo sob plasma (10 min), o que provavelmente evitou um potencial degradação dos carotenoides presentes nas polpas devido a menor exposição aos radicais (Fernandes, Santos & Rodrigues, 2019).

Resultados similares com efeito positivo no conteúdo de carotenoides (32%) foram encontrados com suco de seriguela, utilizando um tempo de processamento de 10 min (Paixão et al., 2018).

Para a explicação do aumento de carotenoides totais nos T3 e T6 da PASE e até mesmo do T3 da PACE, os quais são tratamentos com aplicação de maior fluxo de gás (30 mL), Martinez e colaboradores (2018) relatam que as espécies ionizadas com maior fluxo de gás reagem de forma mais eficaz quebrando a ligação entre as moléculas de carotenoides e as membranas celulares da polpa, aumentando a concentração de carotenoides livres.

### 3.4 Atividade antioxidante

Na Tabela 5, observamos o efeito do plasma frio na atividade antioxidante das polpas de abacate submetidas aos ensaios de DPPH, ORAC-H e ORAC-L.

**Tabela 5.** Atividade antioxidante da polpa de abacate após tratamento com plasma frio

| Tratamentos | Polpa de abacate sem extrato - PASE |                              |                               | Polpa de abacate com extrato - PACE |                              |                             |
|-------------|-------------------------------------|------------------------------|-------------------------------|-------------------------------------|------------------------------|-----------------------------|
|             | DPPH                                | ORAC-H                       | ORAC-L                        | DPPH                                | ORAC-H                       | ORAC-L                      |
| Controle    | 103,71 ± 6,52 <sup>cA</sup>         | 392,17 ± 4,73 <sup>cA</sup>  | 281,94 ± 4,03 <sup>cdA</sup>  | 142,35 ± 3,65 <sup>aB</sup>         | 391,32 ± 9,06 <sup>eA</sup>  | 330,31 ± 3,34 <sup>aB</sup> |
| T1          | 157,39 ± 4,00 <sup>aA</sup>         | 377,8 ± 1,57 <sup>dA</sup>   | 433,51 ± 4,96 <sup>cA</sup>   | 67,53 ± 4,27 <sup>ghB</sup>         | 356,30 ± 4,67 <sup>efB</sup> | 260,23 ± 3,72 <sup>cA</sup> |
| T2          | 148,39 ± 0,91 <sup>bA</sup>         | 401,46 ± 4,82 <sup>bA</sup>  | 192,20 ± 7,80 <sup>eA</sup>   | 73,84 ± 4,24 <sup>gB</sup>          | 296,92 ± 7,05 <sup>hB</sup>  | 283,66 ± 0,79 <sup>bB</sup> |
| T3          | 81,19 ± 3,15 <sup>dA</sup>          | 352,60 ± 5,47 <sup>fA</sup>  | 375,30 ± 7,64 <sup>bA</sup>   | 82,30 ± 8,15 <sup>efA</sup>         | 347,06 ± 4,30 <sup>fA</sup>  | 292,72 ± 7,07 <sup>bB</sup> |
| T4          | 79,45 ± 3,41 <sup>dA</sup>          | 301,55 ± 9,77 <sup>gA</sup>  | 262,66 ± 4,28 <sup>cdeA</sup> | 91,07 ± 5,93 <sup>cdB</sup>         | 328,46 ± 1,62 <sup>gB</sup>  | 240,45 ± 7,06 <sup>dB</sup> |
| T5          | 99,47 ± 3,97 <sup>cA</sup>          | 473,47 ± 0,17 <sup>aA</sup>  | 231,25 ± 0,74 <sup>deA</sup>  | 88,66 ± 7,50 <sup>deA</sup>         | 474,27 ± 6,17 <sup>cA</sup>  | 291,65 ± 3,38 <sup>bB</sup> |
| T6          | 85,61 ± 5,14 <sup>cA</sup>          | 386,57 ± 9,86 <sup>cdA</sup> | 236,28 ± 4,09 <sup>deA</sup>  | 9,02 ± 3,53 <sup>efB</sup>          | 488,38 ± 9,10 <sup>bcB</sup> | 178,78 ± 8,60 <sup>eB</sup> |
| T7          | 37,37 ± 6,53 <sup>eA</sup>          | 396,21 ± 3,79 <sup>bcA</sup> | 237,15 ± 9,36 <sup>deA</sup>  | 90,69 ± 1,37 <sup>deB</sup>         | 470,56 ± 5,59 <sup>cdB</sup> | 265,69 ± 1,16 <sup>cB</sup> |
| T8          | 70,09 ± 5,72 <sup>dA</sup>          | 366,34 ± 0,21 <sup>cA</sup>  | 225,52 ± 8,40 <sup>deA</sup>  | 107,12 ± 6,41 <sup>bB</sup>         | 536,97 ± 1,21 <sup>aB</sup>  | 143,23 ± 7,89 <sup>fB</sup> |
| T9          | 74,16 ± 1,31 <sup>dA</sup>          | 366,25 ± 2,61 <sup>cA</sup>  | 322,33 ± 4,51 <sup>aA</sup>   | 100,41 ± 8,86 <sup>bcB</sup>        | 501,80 ± 3,73 <sup>bB</sup>  | 179,82 ± 4,17 <sup>eB</sup> |

As médias seguidas por letras minúsculas diferentes nas colunas apresentam diferença estatística pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos da mesma amostra. As médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na mesma linha apresentam diferença estatística pelo teste t de Student ( $p < 0,05$ ) entre as polpas de abacate. Resultados expressos em  $\mu\text{mol TEAC} / 100\text{g}$ ;  $\mu\text{mol}$  de equivalente Trolox por 100g de polpa.

### 3.4.1 DPPH

A PASE apresentou um aumento ( $p < 0,05$ ) da atividade antioxidante no ensaio de DPPH nos tratamentos T1 (fluxo de gás de 10 mL/10 min) e T2 (fluxo de gás de 10 mL /30min), de 51% e 43%, respectivamente. Estes resultados podem ser explicados pelo maior conteúdo de fenólicos totais apresentados com uma correlação positiva ( $r = 0.7$ ). Verificando a atividade antioxidante de suco de maçã, Illera e colaboradores (2019), discutiram que as mudanças no conteúdo de compostos fenólicos totais também aumentaram a capacidade antioxidante do suco.

Já para a polpa PACE, todas as matrizes apresentaram uma redução da atividade antioxidante em relação ao tratamento controle ( $p < 0,05$ ). A diminuição dessa atividade pode ter ocorrido em razão dos compostos fenólicos interagirem e neutralizado as espécies ionizadas produzidos pelo plasma e, conseqüentemente reduzir o seu efeito antioxidante na matriz (Dasan & Boyaci, 2018). Além disso, o método é altamente sensível ao ambiente de reação, como a água, solvente, pH, matriz, oxigênio e exposição à luz, os quais impactam em como os antioxidantes agem para transferir elétrons (Schaich & Xie, 2014).

### 3.4.2. ORAC-H

A atividade antioxidante pelo método ORAC-H (Tabela 5) da PASE submetida o tratamento T5 (fluxo de gás de 10 mL/20min), aumentou essa capacidade em torno de 20%, com relação a controle ( $p < 0,05$ ). A polpa submetida a esse tratamento apresentou um dos maiores conteúdos de compostos fenólicos totais, com uma correlação positiva ( $r = 0,75$ ) entre a capacidade de absorção de radicais oxigenados e o teor desses compostos bioativos. Na PACE, os tratamentos T5, T6, T7 e T9 apresentaram um aumento na atividade antioxidante, no entanto, o T8 (fluxo de gás de 20 mL /30min) apresentou maiores valores, com 37% a mais

que a controle ( $p < 0,05$ ) isto porque com maior tempo e fluxo de gás, favoreceu a liberação e posterior extração efetiva desses compostos antioxidantes (Sarangapani et al., 2017; Rodríguez et al., 2017). Similar ao ensaio de DPPH, os fenólicos totais apresentaram uma forte correlação (0,85) com o ensaio de ORAC-H.

As diferenças nos valores de atividade antioxidante entre os ensaios de DPPH e ORAC é devido ao mecanismo e a cinética de reação do método, como também a atuação de compostos antioxidantes presentes na matriz que se comportam de maneira distintas para os ensaios. Para o método ORAC, os compostos antioxidantes apresentam efeito com base na transferência de átomos de hidrogênio, enquanto que no de DPPH são baseados em reações de transferência de elétrons, sequestrando radicais livres (Dávalos, Gómez & Bartolomé, 2004; Rufino et al., 2009). Os compostos fenólicos são responsáveis por atuarem nesses sistemas, explicado pela forte correlação, estes podem ser a epicatequina, catequina, ácido coumárico, ácido rosmarínico e ácido vanílico presentes no abacate, de acordo com relatos científicos anteriores (Filannino et al., 2020).

### 3.4.3 ORAC-L

A atividade antioxidante lipofílica pelo ensaio de ORAC-L (Tabela 5) demonstrou uma redução em comparação ao controle, exceto para os tratamentos T1(fluxo de gás de 10 mL/10 min), T3 (fluxo de gás de 30 mL/10 min) e T9 (fluxo de gás de 20 mL /20min) da PASE ( $p < 0,05$ ) que apresentaram um aumento de 53%, 33% e 14% na atividade, respectivamente. Estes resultados podem ser explicados pelo aumento do conteúdo de carotenoides totais em relação ao controle ( $p < 0,05$ ), os quais contribuem para absorção de radicais oxigenados, devido a concentração desses compostos, o abacate tem a maior capacidade antioxidante total lipofílica dentre as frutas e vegetais (Linting & Babino, 2020). Os carotenoides que predominam no abacate são as

xantofilas, luteína e criptoxantina, contribuindo com cerca de 90% dos carotenoides totais (Cowan & Wolstenholme, 2016).

Ao analisar a atividade antioxidante da PACE, foi observado diferença estatística ( $p < 0,05$ ) quando comparada a polpa controle. Resultado este podendo ser explicado pela interação do extrato do limão com os carotenoides, após tratamento, dificultando a extração desses compostos bioativos e diminuindo sua ação antioxidante lipofílica. Para Meléndez, Vicario & Heredia (2004), agentes como calor, ácidos (alguns carotenoides não são resistentes a pH ácidos), luz e oxigênio provocam alterações nos carotenoides, resultando em formação de isômeros cis com a quebra de suas cadeias. Outra hipótese é que os compostos antioxidantes lipofílicos da polpa podem ter interagido com as espécies reativas geradas por essa tecnologia não térmica (Dasan & Boyaci, 2018).

Os resultados para a atividade antioxidante lipídica descritos neste trabalho podem ser explicados por Pankaj, Wan e Keener (2018), os quais descreveram que o tipo de geração do plasma, o modo de exposição, o produto alimentício e suas características intrínsecas e, os parâmetros de tratamento utilizados, são fatores decisivos no efeito do plasma sobre a atividade antioxidante de matrizes alimentares.

### *3.5 Otimização das condições de tratamento*

Com os resultados obtidos neste trabalho avaliou-se um modelo matemático para otimização das condições a serem empregadas no tratamento com plasma para uma polpa que mantivesse suas características de cor e o maior conteúdo de compostos fenólicos e de carotenoides. Entretanto, o modelo matemático não foi estatisticamente significativo, sendo assim, definiu-se os tratamentos T1 (fluxo de gás de 10 mL/10 min) e T2 (fluxo de gás de 10 mL/30min) da

PASE e, T3 (fluxo de gás de 30 mL/10 min) e T8 (fluxo de gás de 20 mL /30min) da PACE já que estes apresentaram o maior conteúdo de carotenoides e fenólicos totais, avaliando-se o efeito do plasma no perfil de ácidos graxos.

### 3.6 Perfil de ácidos graxos

O perfil de ácidos graxos das polpas de abacate submetidas a plasma frio pode ser observado na Tabela 6.

**Tabela 6.** Perfil de ácidos graxos da polpa de abacate após tratamento com plasma frio

| Composto     | Polpa sem extrato de limão |                           |                           | Polpa com extrato de limão |                           |                           |
|--------------|----------------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|---------------------------|
|              | Controle                   | T1                        | T2                        | Controle                   | T3                        | T8                        |
| C14:0        | 2,70 ± 0,31 <sup>b</sup>   | 1,39 ± 0,15 <sup>c</sup>  | 1,41 ± 0,21 <sup>c</sup>  | 1,63 ± 0,11 <sup>c</sup>   | 2,24 ± 0,28 <sup>b</sup>  | 3,23 ± 0,04 <sup>a</sup>  |
| C16:0        | 29,99 ± 0,62 <sup>a</sup>  | 26,11 ± 0,10 <sup>b</sup> | 25,89 ± 0,40 <sup>b</sup> | 29,61 ± 0,65 <sup>a</sup>  | 26,56 ± 0,55 <sup>b</sup> | 30,03 ± 0,11 <sup>a</sup> |
| C16:1        | 5,96 ± 0,62 <sup>a</sup>   | 4,09 ± 0,03 <sup>b</sup>  | 4,23 ± 0,12 <sup>b</sup>  | 6,05 ± 0,10 <sup>a</sup>   | 3,11 ± 0,07 <sup>c</sup>  | 3,75 ± 0,21 <sup>c</sup>  |
| C18:0        | 1,44 ± 0,00 <sup>a</sup>   | 1,30 ± 0,26 <sup>ab</sup> | 1,33 ± 0,04 <sup>b</sup>  | 1,37 ± 0,19 <sup>ab</sup>  | 1,45 ± 0,12 <sup>ab</sup> | 1,34 ± 0,07 <sup>b</sup>  |
| C18:1        | 39,69 ± 0,48 <sup>c</sup>  | 44,36 ± 0,07 <sup>a</sup> | 44,29 ± 0,14 <sup>a</sup> | 40,71 ± 0,07 <sup>b</sup>  | 42,13 ± 1,49 <sup>a</sup> | 43,71 ± 0,18 <sup>a</sup> |
| C18:2n6c     | 18,36 ± 0,36 <sup>b</sup>  | 20,24 ± 0,21 <sup>a</sup> | 20,28 ± 0,04 <sup>a</sup> | 18,73 ± 0,04 <sup>b</sup>  | 21,01 ± 0,72 <sup>a</sup> | 15,96 ± 0,21 <sup>c</sup> |
| C18:3n6c     | 1,34 ± 0,13 <sup>c</sup>   | 1,90 ± 0,03 <sup>b</sup>  | 2,03 ± 0,10 <sup>a</sup>  | 1,27 ± 0,11 <sup>cd</sup>  | 2,08 ± 0,12 <sup>a</sup>  | 1,26 ± 0,05 <sup>d</sup>  |
| C20:5 EPA    | 0,50 ± 0,03 <sup>c</sup>   | 0,59 ± 0,04 <sup>c</sup>  | 0,50 ± 0,18 <sup>c</sup>  | 0,61 ± 0,42 <sup>b</sup>   | 1,39 ± 1,28 <sup>a</sup>  | 0,71 ± 0,16 <sup>b</sup>  |
| <b>Total</b> | 99,98                      | 100,18                    | 99,96                     | 99,98                      | 99,97                     | 99,99                     |

Médias seguidas por letras minúsculas diferentes nas linhas apresentam diferença estatística para Tukey (p < 0,05) entre os tratamentos e o seu controle para o mesmo composto. Resultados expressos em % de área dos ésteres metílicos.

Oito ácidos graxos foram detectados nas polpas de abacate. Dentre eles, três ácidos saturados, o ácido mirístico (C14:0), ácido palmítico (C16: 0) e o ácido esteárico (C18:0) e, cinco ácidos insaturados, o ácido palmitoléico (C16: 1), ácido oléico (C18:1), ácido linoléico (C18:2n6c), ácido linolênico (C18:3n6c) e ácido eicosapentaenóico (C20:5 EPA) (Tabela 6).

A totalidade dos ácidos graxos identificados na polpa de abacate, mostram que os ácidos graxos insaturados é os que compõem em sua grande maioria essa composição.

O ácido oléico foi o ácido graxo majoritário encontrado em todas as polpas. Apesar de valores próximos, em comparação ao controle, ambas as polpas PASE e PACE apresentaram um aumento no conteúdo desse ácido ( $p < 0,05$ ).

O ácido palmítico, o principal ácido graxo saturado, com uma variação entre 25,89% e 30,03%, observou-se uma redução no conteúdo em ambas polpas em relação ao controle, exceto para a T8 da PACE que não apresentou diferença em relação ao controle ( $p > 0,05$ ).

Para o ácido linoléico, verificou um aumento no conteúdo da PASE e seus tratamentos e no T3 da PACE em comparação aos controles ( $p < 0,05$ ). Já para ácido palmitoléico, as polpas tratadas apresentaram uma redução ( $p < 0,05$ ) em torno de 31,37% para a PASE e, 51,40 % para a PACE.

Estes resultados da maior concentração desses compostos encontrados nas polpas já eram esperados, visto que esses lipofílicos (ácido oléico, palmítico e linoléico) são os identificados em maiores proporções no abacate (Fernández, Gutiérrez & Pancorbo, 2018).

O ácido eicosapentaenóico foi o ácido graxo mais baixo encontrado nas polpas controles e tratamentos aplicados e, nenhuma diferença ( $p < 0,05$ ) constatada foi verificada na PASE.

O desvio padrão do perfil de ácidos graxos presentes nas polpas estudadas pode ter ocorrido devido a manipulação das amostras durante extração e esterificação, fazendo um balanço de massa. Não sendo portanto, influenciado pela tecnologia de plasma frio. Porém, o plasma também está correlacionado ao avanço na oxidação de alimentos gordurosos, desta forma, é essencial estudar sua influência nas matrizes alimentares porque as espécies reativas interagem com os lipídios (Pankaj, Wan & Keener, 2018).

#### 4 Conclusões

A aplicação do plasma frio resultou em modificações diversas nas características químicas e físicas da polpa de abacate. A atividade enzimática da polpa de abacate é reduzida pelo efeito sinérgico do uso do extrato de limão com o plasma frio e, mantém a coloração do produto. Dependendo das variáveis (tempo e fluxo de gás: 10, 20 e 30) do plasma ocorreu um aumento ou diminuição dos compostos fenólicos e carotenoides totais, consequentemente, modificando a atividade antioxidante. Os tratamentos T1 (fluxo de gás de 10 mL/10 min) e T2 (fluxo de gás de 10 mL /30min) da PASE e, T3 (fluxo de gás de 30 mL/10 min) e T8 (fluxo de gás de 20 mL /30min) da PACE, apresentaram o maior conteúdo de fenólicos, carotenoides totais, consequentemente maior atividade antioxidante. Quanto ao perfil de ácidos graxos, nenhuma alteração foi observada.

## Referências

- Alvarez, L. D., Moreno, A. O., Ochoa, F. G. (2012). Avocado. In M. Siddiq (Ed.). *Tropical and subtropical fruits: Postharvest physiology, processing and packaging*. 437 – 454. Oxford: Wiley – Blackwell.
- AOAC - Association of Official Agricultural Chemists (1995). Methods of analysis of AOAC International. 16. ed. Arlington: AOAC, 777-801.
- Araujo, R.G., Rodriguez, J. R. M., Ruiz, H. A., Pintado, M. M. E., Aguilar, C. N. (2018). Avocado by-products: nutritional and functional properties. *Trends in Food Science and Technology*, 80, 51–60.
- Batista, J. D. F. (2017). Polpa de Abacate (*Persea americana* var. *Hass*): um estudo da vida de prateleira. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa.
- Bligh, E. G., Dyer, W. J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal Biochemistry Physiological*, 27, 8, 911-917.
- Bustos, M. C., Mazzobre, M. F., & Buera, M. P. (2015). Stabilization of refrigerated avocado pulp: Effect of *Allium* and *Brassica* extracts on enzymatic browning. *LWT - Food Science and Technology*, 61(1), 89–97.
- Carvalho, C., Kist, B. B., Santos, C. E. (2017). *Anuário brasileiro da fruticultura 2017*. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 88.
- Cowan, A. K. & Wolstenholme, B. N. (2016). *Avocado*. In B. Caballero, P. M. Finglas, & F. Toldrá (Eds.). *Encyclopedia of food and health*. Oxford University Press, p. 294–300.
- Dantas, D., Pasquali, M. A., Mata, M. C., Duarte, M. E., Lisboa, H. M. (2018). Influence of spray drying conditions on the properties of avocado powder drink. *Food Chemistry*, 284–291.
- Dasan, B. G., & Boyaci, I. H. (2018). Effect of Cold Atmospheric Plasma on Inactivation of *Escherichia coli* and Physicochemical Properties of Apple, Orange, Tomato Juices, and Sour Cherry Nectar. *Food Bioprocess Technology*, (11), 334–343.
- Dávalos, A., Gómez-Cordovés, C., & Bartolomé, B. (2004). Extending Applicability of the Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC–Fluorescein) Assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 1, 48–54.
- Fernandes, F. A. N., Santos, V. O., Rodrigues, S. (2019). Effects of glow plasma technology on some bioactive compounds of acerola juice. *Food Research International*.
- Fernández, E. H., Gutiérrez, A. F., Pancorbo, A. C. (2018). Avocado fruit - *Persea americana*. *Exotic Fruits Reference Guide*, 37 – 48.

Filannino, P., Z. A. Tlais, A., Morozova, K., Cavoski, I., Scampicchio, M., Gobbetti, M., & Di Cagno, R. (2020). Lactic acid fermentation enriches the profile of biogenic fatty acid derivatives of Avocado fruit (*Persea americana* Mill.). *Food Chemistry*.

Fuentes Campo, A., Sancho, M. I., Melo, G., Dávila, Y. A., & Gasull, E. (2018). In vitro and in vivo inhibition of Hass avocado polyphenol oxidase enzymatic browning by paeonol,  $\beta$ -cyclodextrin, and paeonol: $\beta$ -cyclodextrin inclusion complex. *Journal of Bioscience and Bioengineering*.

Hati, S., Patel, M., & Yadav, D. (2018). Food bioprocessing by non-thermal plasma technology. *Current Opinion in Food Science*, 19, 85–91.

Hartmann, L. & Lago, R.C.A. (1973). Rapid preparation of fatty acids methyl esters from lipids. *Laboratory practices*, 22, 475-477.

Herceg, Z., Kovačević, D. B., Kljusurić, J. G., Jambrak, A. R., Zorić, Z., & Dragović-Uzelac V. (2016). Gas phase plasma impact on phenolic compounds in pomegranate juice. *Food Chemistry*, 190, 1, 665-672.

Hou, Y., Wang, R., Gan, Z., Shao, T., Zhang, X., He, M., Sun, A. (2019). Effect of cold plasma on blueberry juice quality, *Food Chemistry*.

Illera, A. E., Chaple, S., Sanz, M. T., Ng, S., Lu, P., Jones, J., Carey, E., Bourke, P. (2019). Effect of Cold plasma on Polyphenol oxidase inactivation in cloudy apple juice and on the quality parameters of the juice during storage. *Food Chemistry*, 3.

Jesus, A. L. T., Leite, T., S., Cristianini, M. (2018). 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*, 105, 853 – 862.

Lichtenthaler, H. K. (1987). Chlorophylls and Carotenoids: Pigments of Photosynthetic Biomembranes. In: PACKER, L., DOUCE, R. (Eds.). *Methods in Enzymology*. London, 148, 350-382.

Lintig, J., Babino, D. (2020). Vitamin A and Other Carotenoids. *Principles of Nutrigenetics and Nutrigenomics*, 237-244.

Lorenzo, J. M., Estévez, M., Barba, F. J., Thirumdas, R., Franco, D., & Munekata, P. E. S. (2019). *Polyphenols: Bioaccessibility and bioavailability of bioactive components*. Innovative Thermal and Non-Thermal Processing, Bioaccessibility and Bioavailability of Nutrients and Bioactive Compounds, 309–332.

Martinez, J. M., Delso, C., Angulo, J., Alvarez, I., & Raso, J. (2018). Pulsed electric field-assisted extraction of carotenoids from fresh biomass of *Rhodotorula glutinis*. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 47, 421–427.

Maskan, M. (2001). Kinetics of colour change of kiwifruits during hot air and microwave drying. *Journal of Food Engineering*, 48(2), 169–175.

- MCguire, R. G. (1992). Reporting of Objective Color Measurements. *HortScience*, 27, 12, 1254- 1255.
- Meléndez, M. A. J., Vicario, I. M., Heredia, F. J. (2004). Estabilidad de los pigmentos carotenoides em los alimentos. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 54, 209-215.
- Misra, N. N. & Jo, C. (2017). Applications of cold plasma technology for microbiological safety in industry. *Trends in Food Science & Technology* meat, 64, 74-86.
- Oktay, M., Küfreviolu, I., Kocaçalışkan, I., & Şaklrolu, H. (1995). Polyphenoloxidase from Amasya Apple. *Journal of Food Science*, 60(3), 494–496.
- Paixão, L. M. N., Fonteles, T. V., Oliveira, V. S., Fernandes, F. A. N., & Rodrigues, S. (2018). Cold Plasma Effects on Functional Compounds of Siriguela Juice. *Food and Bioprocess Technology*.
- Pankaj, S. K., Wan, Z. & Keener, K. M. (2018). Effects of Cold Plasma on Food Quality: A Review. *Foods*, 7, 4.
- Papadakis, S. E. et al. (2000). Versatile and inexpensive technique for measuring color foods. *Food Technology*, 54, 12, 48 - 51.
- Pedrouso, M. L., Reinoso, B. D., Lorenzo, J. M., Cravotto, G., Barba, F. J., Moure, A., Domíngues, H., Franco, D. (2019). *Green technologies for food processing: Principal considerations*. Innovative Thermal and Non-Thermal Processing, Bioaccessibility and Bioavailability of Nutrients and Bioactive Compounds, 55–103.
- Prior, R. L., Hoang, H., Gu, L., Wu, X., Bacchiocca, M., Howard, L., et al. (2003). Assays for hydrophilic and lipophilic antioxidant capacity (oxygen radical absorbance capacity (ORACFL) of plasma and other biological and food samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 3273–3279.
- Ribeiro, L. O., Pereira, R. N. C., Tonon, R. V., Cabral, L. M. C., Santiago, M. C. P. A., Vicente, A. A., ... Freitas, S. P. (2018). Antioxidant compounds recovery from Juçara residue by thermal assisted extraction. *Plant Foods for Human Nutrition*, 73(1), 68–73.
- Rodríguez, Ó., Gomes, W. F., Rodrigues, S., & Fernandes, F. A. N. (2017). Effect of indirect cold plasma treatment on cashew apple juice (*Anacardium occidentale* L.). *Food Science and Technology*, 84, 457–463.
- Schaich, K. M., Tian, X., & Xie, J. (2015). Reprint of “Hurdles and pitfalls in measuring antioxidant efficacy: A critical evaluation of ABTS, DPPH, and ORAC assays.” *Journal of Functional Foods*, 18, 782–796.
- Singleton, V. L., Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture* ,16, 144-158.

Tabeshpour, J., Razavi, B. M., & Hosseinzadeh, H. (2017). Effects of Avocado (*Persea americana*) on Metabolic Syndrome: A Comprehensive Systematic Review. *Phytotherapy Research*, 31(6), 819–837.

Toledo, L. & Aguirre, C. (2016). Enzymatic browning in avocado (*Persea americana*) revisited: History, advances, and future perspectives. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57, 3860–3872.

Wu, X., Beecher, G.R., Holden, J.M., Haytowitz, D.B., Gebhardt, S.E., Prior, R. (2016). Lipophilic and hydrophilic antioxidant capacities of common foods in the United States. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 4026-4037.

## 5 CONCLUSÃO

Este estudo apresenta relevantes dados sobre os efeitos da aplicação do plasma frio na polpa de abacate como uma opção de tecnologia não térmica na manutenção da qualidade e dos compostos bioativos da polpa de abacate. Os efeitos do plasma frio variaram em relação as condições empregadas no tratamento do plasma, fluxo de gás e tempo, e em relação a polpa de abacate com adição de extrato de limão (PACE) e sem adição do extrato de limão (PASE). Na PACE, o plasma reduziu a atividade enzimática e manteve a coloração nos tratamentos com maior fluxo de gás e maior tempo de processamento. O plasma promoveu o aumento de compostos fenólicos e carotenoides totais em alguns dos tratamentos, principalmente nos T1 e T2 (fluxo de gás 10 mL/10 e 30 min) quando aplicados na PASE e no T3 e T8 (fluxo de gás 30 mL/10 min e 20 ml/30 min) na PACE, contribuindo para alta atividade antioxidante nos ensaios de DPPH, ORAC-H e ORAC-L. No perfil de ácidos graxos, nenhuma alteração foi identificada após aplicação da tecnologia. Com os resultados obtidos na pesquisa, conclui-se que a combinação do plasma frio com a adição do extrato de limão na polpa de abacate pode proporcionar a manutenção na coloração do produto, devido ao redução do escurecimento enzimático. Contudo, por ser um estudo pioneiro na aplicação dessa tecnologia no abacate, há necessidade da continuidade de estudos com essa tecnologia para os seus efeitos nas características nutricionais, sensoriais e na oxidação lípidica da polpa durante o armazenamento.