

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA POLITÉCNICA**

EDUARDO DOS SANTOS FUNCIA

**Estudo e modelagem da inativação enzimática no processamento de água de
coco verde e suco de laranja por aquecimento ôhmico e dielétrico**

São Paulo
2020

EDUARDO DOS SANTOS FUNCIA

**Estudo e modelagem da inativação enzimática no processamento de água de
coco verde e suco de laranja por aquecimento ôhmico e dielétrico**

Versão revisada

(A versão original encontra-se na unidade que aloja o programa de Pós-graduação)

Tese apresentada à Escola Politécnica da
Universidade de São Paulo para obtenção
do título de Doutor em Ciências

Área de Concentração: Engenharia
Química

Orientador: Prof. Dr. Jorge Andrey
Wilhelms Gut

São Paulo

2020

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Este exemplar foi revisado e corrigido em relação à versão original, sob responsabilidade única do autor e com a anuência de seu orientador.

São Paulo, 02 de abril de 2020

Assinatura do autor: EdUARdo Funcia

Assinatura do orientador: João B. B.

Catálogo-na-publicação

Funcia, Eduardo

Estudo e modelagem da inativação enzimática no processamento de água de coco verde e suco de laranja por aquecimento ôhmico e dielétrico / E. Funcia -- versão corr. -- São Paulo, 2020.

140 p.

Tese (Doutorado) - Escola Politécnica da Universidade de São Paulo. Departamento de Engenharia Química.

1. Pasteurização 2. Enzimas 3. Água de coco verde 4. Suco de laranja
I. Universidade de São Paulo. Escola Politécnica. Departamento de Engenharia Química II. t.

AGRADECIMENTOS

À minha família pelo apoio material e moral durante a realização deste trabalho e pelas oportunidades e experiências durante toda minha vida.

Ao Prof. Dr. Jorge Andrey Wilhelms Gut pela orientação, paciência e dedicação extraordinárias.

A Tiago Augusto Bulhões Bezerra Cavalcante e Érica Sayuri Siguemoto pelas discussões enriquecedoras e pela colaboração em experimentos e na vida.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), processos 2013/07914-8, 2014/17534-0, 2014/25179-6, 2016/24265-1 e 2017/24163-7; à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES), Código de Financiamento 001; e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), processos 459177/2014-1 e 311868/2018-5 pelo apoio financeiro.

Aos alunos e funcionários do Laboratório de Engenharia de Alimentos pela convivência e pelos momentos desfrutados.

À Universidade de São Paulo, pelo apoio institucional e pelo estimulante ambiente cultural e científico proporcionado.

Ao Prof. Dr. Adalberto Pessoa Júnior e sua equipe da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo pelo uso do espectrofotômetro.

A todos os meus professores, em todas as etapas da vida.

To Sudhir Sastry, Brian Heskitt, Taras Pyatkovskiy, Wladimir Silva-Vera, Jin Mok, David Wituszynski, Murilo Siqueira and Anne Joliot for all the assistance and camaraderie during my stay in the USA.

A todos que, direta ou indiretamente, me auxiliaram neste trabalho e permitiram que ele fosse desenvolvido.

That is beyond our experience, but not beyond our imagination, or our mathematics.

(Stephen Hawking)

Science is a self-correcting process. [...] Our greatest resource is ingenuity, and we'll never run out of that.

(Carl Sagan)

RESUMO

Os atributos de qualidade de alimentos a base de frutas são sensíveis à alta temperatura necessária para inativar as enzimas deteriorantes polifenoloxidase (PPO), peroxidase (POD) e pectinesterase (PE). O aquecimento ôhmico e o por micro-ondas focalizadas são promissores por promoverem rápido aquecimento volumétrico sem sobreaquecimento superficial e com um possível efeito não-térmico sobre a inativação. O objetivo deste trabalho foi estudar a inativação de PPO e POD em água de coco verde por micro-ondas e a de PE em suco de laranja por aquecimento ôhmico para determinação das respectivas cinéticas de inativação, visando identificação de efeitos não-térmicos. Ensaios descontínuos foram realizados em banhos térmicos de imersão, em um mini-reator de síntese química por micro-ondas focalizadas com registro de temperatura por fibra óptica (água de coco) e em uma célula customizada de aquecimento ôhmico com refrigeração e registro de temperatura por termopar isolado (suco de laranja). Modelos cinéticos para a predição da atividade residual foram ajustados com base nos históricos de temperatura similares para ensaios convencionais e eletrotérmicos pareados, usando um método de otimização não-linear atrelado à integração numérica da letalidade, desta forma evitando a hipótese simplificadora de temperatura constante. A incerteza dos parâmetros ajustados foi quantificada por métodos de Monte Carlo. Os modelos cinéticos de primeira ordem e fracional não descreveram adequadamente os dados. O modelo de Weibull com fator de forma constante apresentou melhor convergência e ajuste semelhante ou melhor ao modelo de duas frações para a PE e a PPO. As estimativas das distribuições dos parâmetros dependeram do método de aquecimento. Foram observadas evidências da dependência de possíveis efeitos não-térmicos com a temperatura de processo. A POD apresentou sobreativação e nenhum dos modelos estudados se mostrou adequado. Espera-se que, com a quantificação dos efeitos não-térmicos de campos elétricos sobre a inativação das enzimas da água de coco verde e do suco de laranja, esta pesquisa permita avaliar a viabilidade e o escalonamento dessas tecnologias para o processamento destes produtos.

Palavras-Chave: Pasteurização. Enzimas. Água de coco verde. Suco de laranja.

Study and modeling of enzyme inactivation in the processing of green coconut water and orange juice by ohmic and dielectric heating

ABSTRACT

Quality attributes of fruit-based foods are sensitive to the high temperatures required to inactivate the deteriorating enzymes polyphenoloxidase (PPO), peroxidase (POD) and pectinesterase (PE). Ohmic and focused microwave heating are promising because they promote rapid volumetric heating without superficial overheating and with a possible non-thermal effect on inactivation. The objective of this work is to study the inactivation of PPO and POD in green coconut water and that of PE in orange juice to determine the respective inactivation kinetics, aiming at identifying non-thermal effects. Batch tests were performed in thermal immersion baths, in a chemical synthesis mini-reactor by focused microwaves with temperature recording by optical fiber sensors and in a customized ohmic heating cell with refrigeration and temperature recording by insulated thermocouple. Kinetic models for the prediction of residual activity were fitted based on similar temperature histories for paired conventional and electrothermal tests, using a nonlinear optimization method linked to the numerical integration of lethality, thus avoiding the simplifying hypothesis of constant temperature. The uncertainty of the fitted parameters was quantified by Monte Carlo methods. The first order and fractional kinetic models did not adequately describe the data. The Weibull model with a constant shape factor showed convergence and fit similar or better to the two fractions model for PE and PPO. Estimates of parameter distributions depended on the heating method. Evidence of dependence on possible non-thermal effects with process temperature was observed. The POD showed overactivation and none of the studied models proved to be adequate. It is hoped that this research, by the quantifying the non-thermal effects of electric fields on the inactivation of enzymes in green coconut water and orange juice, will allow assessment of the viability and scale-up of these technologies for the processing of these products.

Keywords: Pasteurization. Enzymes. Green coconut water. Orange juice.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 3.1	– Simulação de formas das isotermas de inativação para o modelo de primeira ordem (a), de duas frações (b), fracional (c) e de Weibull (d)	45
Figura 3.2	– Comparação de comportamentos de isotermas segundo modelos de $m = 1, 2$ e 5 frações (linhas tracejadas) e segundo modelo de Weibull com $\beta < 1$ (linha contínua)	49
Figura 3.3	– Permissividade elétrica relativa e fator de perda em função da frequência e da temperatura	56
Figura 4.1	Extratora de água de coco por gravidade utilizada para perfuração dos cocos	67
Figura 4.2	Espectrofotômetro e microplaca utilizados nas leituras de turbidez e de atividade enzimática de amostras de água de coco	68
Figura 4.3	Lote de laranjas (variedade Navel) utilizado no estudo da cinética de inativação da PE por aquecimento convencional e ôhmico, após sanitização	69
Figura 4.4	Extrator doméstico de suco utilizado para obter e filtrar suco de laranja	69
Figura 4.5	Ilustração e esquema do mini reator Discover Reflux da CEM Corporation, indicando a focalização de micro-ondas na cavidade de reação	71
Figura 4.6	Mini reator Discover da CEM Corporation na bancada do laboratório, acompanhado de sensor de temperatura por fibra óptica e computador com software para controle do equipamento	71
Figura 4.7	Figura 4.7: Comparação de taxas de aquecimento por micro-ondas de amostras de 5 mL de água de coco usando diferentes configurações de controle de mini reator de bancada	72

Figura 4.8	Esquema da célula de aquecimento ôhmico customizada na configuração de aquecimento convencional (a) e ôhmico (b) de amostras de suco de laranja	74
Figura 4.9	Recipiente de polietileno usado no tratamento por imersão em banho térmico e esquema do tratamento térmico convencional descontínuo	75
Figura 4.10	Aparato experimental de titulação manual para determinação da atividade da PE em suco de laranja	76
Figura 4.11	Representação de determinação da taxa de reação a partir de trechos lineares das curvas de absorbância ou de volume titulado em função do tempo	77
Figura 4.12	Representação do método de Monte Carlo por reamostragem de <i>bootstrap</i> suavizado: criação de amostra pseudo-experimental a partir dos dados para novo ajuste de parâmetros	80
Figura 5.1	– Medidas experimentais (linhas contínuas) e previsões de modelo (X) para permissividade relativa e fator de perda de lotes de água de coco em função da frequência	82
Figura 5.2	– Exemplos de comparação de históricos tempo-temperatura entre aquecimentos convencional (laranja) e eletrotérmico (azul): (a) e (b) suco de laranja, aquecimento ôhmico; (c) e (d) água de coco e aquecimento por micro-ondas	83
Figura 5.3	– Comparação de letalidades integradas de ensaios para ajuste (a) e validação (b) de modelo de inativação de PPO em água de coco por aquecimento convencional e por micro-ondas	84
Figura 5.4	– Comparação de letalidades integradas de ensaios para ajuste de modelo de inativação de POD em água de coco por aquecimento convencional e por micro-ondas	84
Figura 5.5	– Comparação de letalidades integradas de ensaios para ajuste de modelo de inativação de PE em suco de laranja por aquecimento convencional e ôhmico	84

Figura 5.6	– Avaliação dos resíduos e diagrama de paridade para ajuste do modelo de Weibull para inativação da PPO em água de coco por aquecimento convencional	88
Figura 5.7	– Avaliação dos resíduos e diagrama de paridade para ajuste do modelo de Weibull para inativação da PPO em água de coco por aquecimento por micro-ondas	88
Figura 5.8	– Avaliação dos resíduos e diagrama de paridade para validação do modelo de Weibull para inativação da PPO em água de coco por aquecimento convencional.	89
Figura 5.9	– Avaliação dos resíduos e diagrama de paridade para validação do modelo de Weibull para inativação da PPO em água de coco por aquecimento por micro-ondas	90
Figura 5.10	– Comparação de modelos secundários de Bigelow e Arrhenius em simulações teóricas do modelo de Weibull para inativação da PPO em água de coco por aquecimento convencional (azul) e por micro-ondas (vermelho) para temperaturas de 60 °C (a), 70 °C (b), 80 °C (c) e 90 °C (d) .	91
Figura 5.11	– Avaliação dos resíduos e diagrama de paridade para ajuste do modelo de Weibull para inativação da POD em água de coco por aquecimento convencional	95
Figura 5.12	– Avaliação dos resíduos e diagrama de paridade para ajuste do modelo de Weibull para inativação da POD em água de coco por aquecimento por micro-ondas	95
Figura 5.13	– Avaliação dos resíduos e diagrama de paridade para ajuste do modelo de Weibull para inativação da PE em suco de laranja por aquecimento convencional	98
Figura 5.14	– Avaliação dos resíduos e diagrama de paridade para ajuste do modelo de Weibull para inativação da PE em suco de laranja por aquecimento ôhmico	98
Figura 5.15	– Comparação de ensaios experimentais e previsões do modelo de Weibull para inativação da PE em suco de laranja	99

Figura 5.16	– Histogramas das estimativas dos parâmetros do modelo de Weibull para inativação da PPO em água de coco por aquecimento convencional (preto) e por micro-ondas (cinza), e comparação com distribuição normal ajustada . . .	102
Figura 5.17	– Histogramas das estimativas dos parâmetros do modelo de Weibull para inativação da PE em suco de laranja por aquecimento convencional (preto) e ôhmico (cinza), e comparação com distribuição normal ajustada.	104
Figura 5.18	– Distribuições conjuntas e regiões de confiança das estimativas dos parâmetros do modelo de Weibull para inativação da PPO em água de coco por aquecimento convencional e por micro-ondas	105
Figura 5.19	– Distribuições conjuntas e regiões de confiança das estimativas dos parâmetros do modelo de Weibull para inativação da PE em suco de laranja por aquecimento convencional ôhmico	106

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1	– Resumo de atrativos e desafios de tecnologias alternativas de processamento de água de coco verde e de suco de laranja	35
Tabela 3.2	– Faixas de frequência alocadas para aplicações científicas, médicas e industriais em diferentes regiões.	55
Tabela 4.1	– Condições de tempo, temperatura e potência inicial dos ensaios descontínuos para ajuste dos modelos de inativação enzimática por micro-ondas focalizadas	73
Tabela 4.2	– Condições de tempo e temperatura dos ensaios descontínuos para ajuste dos modelos de inativação enzimática por aquecimento ôhmico	74
Tabela 4.3	– Condições de tempo, temperatura e potência incidente de micro-ondas máxima dos ensaios descontínuos para validação dos modelos de inativação enzimática	80
Tabela 5.1	– Valores experimentais das propriedades de água de coco verde e suco de laranja a 25 °C	81
Tabela 5.2	– Parâmetros ajustados dos modelos de inativação da PPO em água de coco por aquecimento convencional.	86
Tabela 5.3	– Parâmetros ajustados dos modelos de inativação da PPO em água de coco por aquecimento por micro-ondas	86
Tabela 5.4	– Comparação de critérios de seleção para modelos cinéticos de inativação da PPO	87
Tabela 5.5	– Parâmetros ajustados dos modelos de inativação da POD em água de coco por aquecimento convencional.	93
Tabela 5.6	– Parâmetros ajustados dos modelos de inativação da POD em água de coco por aquecimento por micro-ondas	94
Tabela 5.7	– Parâmetros ajustados dos modelos de inativação da PE em água de coco por aquecimento convencional.	96
Tabela 5.8	– Parâmetros ajustados dos modelos de inativação da PE em água de coco por aquecimento ôhmico	97

Tabela 5.9	– Comparação de critérios de seleção para modelos cinéticos de inativação da PE	97
Tabela 5.10	– Médias e desvios-padrão para os parâmetros do modelo de Weibull para inativação da PPO por aquecimento convencional e por micro-ondas	101
Tabela 5.11	– Médias e desvios-padrão para os parâmetros do modelo de Weibull para inativação da PE por aquecimento convencional e ôhmico	103
Tabela A.1	– Atividades residuais experimentais da PPO e temperaturas e tempos de retenção nominais em aquecimento de água de coco para ajuste de modelos	137
Tabela A.2	– Atividades residuais experimentais da PPO e temperaturas e tempos de retenção nominais em aquecimento de água de coco para validação de modelos	138
Tabela A.3	– Atividades residuais experimentais da POD e temperaturas e tempos de retenção nominais em aquecimento de água de coco para ajuste de modelos	139
Tabela A.4	– Atividades residuais experimentais da PE e temperaturas e tempos de retenção nominais em aquecimento ôhmico e convencional de suco de laranja para ajuste de modelos . . .	140

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
PE	Pectinesterase
POD	Peroxidase
PPO	Polifenoloxidase

LISTA DE SÍMBOLOS

A	atividade enzimática	katal
A_0	atividade enzimática no instante inicial	katal
A_∞/A_0	fração enzimática não inativada	adimensional
Abs	absorbância	U
AIC	critério de informação de akaike	adimensional
BIC	critério de informação bayesiano	adimensional
c	velocidade da luz no vácuo	m/s
Cov	matriz de covariância	adimensional
D	tempo de redução decimal	s
D'	tempo até a primeira redução decimal	s
d_p	profundidade de penetração da onda no meio	m
D_r	tempo de redução decimal na temperatura de referência	s
D'_r	tempo até a primeira redução decimal na temperatura de referência	s
E_a	energia de ativação	Jmol ⁻¹ K ⁻¹
f	frequência da onda	Hz
F_{T_r}	tempo equivalente ou letalidade integrada	s
i	índice de contagem	adimensional
J	matriz jacobiana	[s ⁻¹ ,K ⁻¹ ,adimensional]
j	índice de contagem	adimensional
J_p	erro de previsão final de eHocking	adimensional
k	taxa de reação	s ⁻¹
k_r	taxa de reação na temperatura de referência	s ⁻¹
L_t	letalidade	adimensional
m	número de isoformas enzimáticas	adimensional
MSE	erro quadrático médio	adimensional
N	número de micro-organismos	adimensional
n	número de experimentos	adimensional
N_0	número de micro-organismos no instante inicial	adimensional
p	número de parâmetros	adimensional
R	constante universal dos gases	Jmol ⁻¹ K ⁻¹
R^2	coeficiente de determinação	adimensional
R^2_{aj}	coeficiente de determinação ajustado	adimensional
\dot{s}	taxa de inativação	s ⁻¹
SEQ	soma dos quadrados dos erros	adimensional

S_p	estatística de Hocking	adimensional
t	tempo	s
T	temperatura	K
T_r	temperatura de referência	K
$Turb$	turbidez	%
z	constante de resistência térmica	K

Letras gregas

α	fração de isoforma enzimática	adimensional
β	fator de forma	adimensional
Δt	passo no tempo discretizado	s
$\Delta\theta$	pequena perturbação no valor ajustado do parâmetro	s/K/adimensional
ϵ'	permissividade elétrica relativa	adimensional
ϵ''	fator de perda	adimensional
θ	parâmetro do modelo	s/K/adimensional
$\theta_{(i),j}$	pseudo-valores dos parâmetros	s/K/adimensional
$\bar{\theta}$	média dos pseudo-valores dos parâmetros	s/K/adimensional
$\theta_{i,j}$	estimativa de parâmetro retirando um ponto experimental	s/K/adimensional
λ	comprimento de onda	m
σ_A	desvio-padrão da atividade enzimática	adimensional
σ_{A/A_0}	desvio-padrão da atividade residual	adimensional
σ_{A_0}	desvio-padrão da atividade no instante inicial	adimensional
σ_{res}	desvio-padrão dos resíduos do modelo	adimensional
σ_θ	desvio-padrão do parâmetro	s/K/adimensional

Subscritos

r	referência de temperatura
s	fração enzimática termoestável
l	fração enzimática termolábil
0	instante inicial
exp	experimental
$calc$	calculado

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	23
2	OBJETIVOS	27
2.1	OBJETIVOS DO TRABALHO	27
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	27
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	29
3.1	PROCESSAMENTO DA ÁGUA DE COCO E DO SUCO DE LARANJA	29
3.1.1	<i>Água de coco</i>	29
3.1.2	<i>Suco de laranja</i>	30
3.1.3	<i>Métodos de conservação tradicionais</i>	31
3.1.4	<i>Métodos de conservação alternativos</i>	34
3.2	MODELOS CINÉTICOS DE INATIVAÇÃO ENZIMÁTICA	37
3.2.1	<i>Enzimas</i>	37
3.2.2	<i>Peroxidase, polifenoloxidase e pectinesterase</i>	38
3.2.3	<i>Modelos de inativação térmica</i>	41
3.2.4	<i>Ajuste de modelos</i>	50
3.2.5	<i>Incerteza dos parâmetros do modelo ajustado</i>	51
3.3	TRATAMENTO TÉRMICO DE ALIMENTOS POR MICRO-ONDAS E POR AQUECIMENTO ÔHMICO	54
3.3.1	<i>Propriedades de interesse no aquecimento ôhmico e por micro-ondas</i> .	54
3.3.2	<i>Processamento de alimentos por micro-ondas</i>	57
3.3.3	<i>Processamento de alimentos por aquecimento ôhmico</i>	59
3.3.4	<i>Efeitos não térmicos</i>	61
4	MATERIAIS E MÉTODOS	67
4.1	OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA ÁGUA DE COCO	67
4.2	OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO SUCO DE LARANJA	69
4.3	PASTEURIZAÇÃO POR MICRO-ONDAS	70
4.4	PASTEURIZAÇÃO ÔHMICA	73
4.5	PASTEURIZAÇÃO CONVENCIONAL	74
4.6	DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA	75
4.7	AJUSTE E VALIDAÇÃO DOS MODELOS	77
4.7.1	<i>Ajuste dos modelos</i>	77
4.7.2	<i>Estimativa da incerteza</i>	79

4.7.3	<i>Validação do modelo de inativação da PPO</i>	80
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	81
5.1	CARACTERIZAÇÃO DA ÁGUA DE COCO E DO SUCO DE LARANJA	81
5.2	ENSAIOS DE TRATAMENTO TÉRMICO	82
5.2.1	<i>Adequação dos históricos tempo-temperatura</i>	82
5.2.2	<i>Ajustes dos modelos de inativação da PPO</i>	85
5.2.3	<i>Ajustes dos modelos de inativação da POD</i>	93
5.2.4	<i>Ajustes dos modelos de inativação da PE</i>	95
5.3	INCERTEZA DOS PARÂMETROS DOS MODELOS	100
6	CONCLUSÕES	109
	REFERÊNCIAS	111
	APÊNDICE A – Dados de inativação da PPO e da POD em água de coco verde e da PE em suco de laranja por aquecimento convencional, ôhmico e por micro-ondas focalizadas.	137

1 INTRODUÇÃO

O tratamento térmico de alimentos visa à inativação de micro-organismos patogênicos e deteriorantes e de enzimas indesejadas a fim de estender a vida de prateleira do produto e garantir a sua inocuidade. Tais processos são compostos por três etapas (LEWIS; HEPPELL, 2000; FELLOWS, 2009):

- um estágio de aquecimento, no qual o produto atinge uma temperatura letal;
- um tempo de retenção nesta temperatura, para atingir a letalidade desejada;
- resfriamento até uma temperatura de envase e armazenamento assépticos.

Enzimas presentes naturalmente em alimentos líquidos – como a pectinesterase (PE) em suco de laranja, a polifenoloxidase (PPO) em água de coco verde ou a peroxidase (POD) em suco de maçã – causam alterações sensoriais indesejáveis e decréscimo no valor nutricional do alimento. Em alimentos ácidos como sucos de frutas ou acidificados com aditivos ($\text{pH} < 4,6$), o desenvolvimento de micro-organismos é limitado e as enzimas deteriorantes podem ser tomadas como alvos do processamento. Em alimentos pouco ácidos como o leite ($\text{pH} > 4,6$), o objetivo do tratamento deve ser a inativação de micro-organismos patogênicos, e enzimas mais resistentes à temperatura que os micro-organismos alvo podem ser empregadas como indicadores da eficácia do tratamento térmico (CLAEYS; VAN LOEY; HENDRICKX, 2003; AWUAH; RAMASWAMY; ECONOMIDES, 2007; TEIXEIRA, 2007; TOLEDO, 2007; ZHONG et al., 2007; AGUIAR; YAMASHITA; GUT, 2012; MORITZ et al., 2012). Nestes processos, entretanto, também ocorre a redução dos atributos de qualidade, altamente dependentes dos parâmetros do tratamento térmico. Desta forma, o desenvolvimento de modelos e a otimização do processo de tratamento térmico é essencial para a obtenção de um produto inócuo e de alta qualidade (VAN BOEKEL; JONGEN, 1997; AWUAH; RAMASWAMY; ECONOMIDES, 2007).

A água de coco verde e o suco de laranja são importantes produtos alimentícios no segmento de bebidas, devido aos seus aroma, sabor e nutrientes característicos. A industrialização da água de coco verde é desafiadora devido à presença das enzimas PPO e POD. Após a extração da água de coco ocorre exposição ao oxigênio do ar e à luz, permitindo a ação das enzimas sobre atributos como cor e sabor, com alteração

da qualidade sensorial (CAMPOS et al., 1996; DUARTE; COELHO; LEITE, 2002; PRADES et al., 2012a, 2012b). Já a industrialização do suco de laranja visa à inativação da enzima termorresistente PE, a fim de impedir sua ação natural de clarificação do suco e assim reter o aspecto de produto fresco (VERSTEEG et al., 1980; ÜLGEN; ÖZILGEN, 1991; JOLIE et al., 2010).

Os métodos de tratamento térmico atuais são eficazes em inativar a PPO, a POD e a PE em alimentos. Entretanto, as condições de temperatura e tempo necessárias para a inativação dessas enzimas geralmente promovem alterações sensoriais indesejadas (EAGERMAN; ROUSE, 1976; VERSTEEG et al., 1980; CASTALDO et al., 1991; ÜLGEN; ÖZILGEN, 1991; CAMPOS et al., 1996; SILVA et al., 2003; CHOWDHURY; AZIZ; UDDIN, 2005; COSTA et al., 2005; ABREU; FARIA, 2007).

Rawson et al. (2011) citam a importância da busca por novas técnicas de processamento de frutas a fim de preservar nutrientes. Em particular, Prades et al. (2012a) concluem que tecnologias emergentes deveriam ser investigadas para desenvolver um processo com menor impacto na qualidade sensorial e nutricional da água de coco, reduzindo o uso de conservantes. Nesse contexto, buscando aprimorar a extração e a produção de suco de laranja, Demirdöven e Baysal (2015) ressaltam o uso de novas tecnologias de aquecimento, como micro-ondas focalizadas e aquecimento ôhmico, como uma alternativa interessante para o processamento de produtos líquidos a base de frutas (VIKRAM; RAMESH; PRAPULLA, 2005; MATSUI et al., 2008; DELFIYA; THANGAVEL, 2016).

O processamento térmico de alimentos líquidos por micro-ondas ou por aquecimento ôhmico traz importantes vantagens em relação ao aquecimento convencional. Por promover rápido aumento volumétrico de temperatura, evita-se a perda de qualidade que ocorre ao longo do aquecimento até a temperatura de processo. Além disso, há menor sobreaquecimento da superfície em contato com o alimento, já que este é penetrado por ondas eletromagnéticas que atravessam o alimento ou por uma corrente elétrica alternada entre eletrodos em contato com o alimento, com o potencial de diminuir a formação de depósitos e degradação térmica superficial (DATTA, 2001; TANG; HAO; LAU, 2002; AWUAH; RAMASWAMY; ECONOMIDES, 2007; TEWARI, 2007; JAESCHKE; MARCZAK; MERCALI, 2016; KAUR; SINGH, 2016).

Outra possível vantagem dessas técnicas de processamento seria o efeito não térmico do campo eletromagnético oscilante (no caso das micro-ondas) ou da corrente elétrica alternada (no caso do aquecimento ôhmico) sobre a atividade de enzimas e micro-organismos. Esta característica do processo permitiria trabalhar em temperaturas ou tempos inferiores ao do processo convencional (ROY; GUPTA, 2003; MATSUI et al., 2008; SOMAVAT et al., 2012). Entretanto, a quantificação do efeito não térmico ainda é um tema controverso na literatura e alguns trabalhos são questionados por compararem condições diferentes de processamento (JACOB; CHIA; BOEY, 1995; CASTRO et al., 2004; KAPPE; DALLINGER, 2006; SHAZMAN et al., 2007; LIU; ZHANG, 2011; SOMAVAT; MOHAMED; SASTRY, 2013; KUBO et al., 2020).

Ling et al. (2015) reforçam a importância de modelos no estudo da cinética de alterações nos alimentos durante processos térmicos, que permitem garantir a satisfação e a segurança do consumidor. Peleg (2006) argumenta que novas evidências e melhores condições de processos tornaram obsoletos os modelos consagrados de preservação de alimentos. Van Boekel (2008) também propõe a avaliação e comparação de novos modelos, e defende maior uso de ferramentas estatísticas na modelagem de processos alimentícios a fim de estimar a incerteza na previsão e integrar qualidade e segurança no projeto do produto e do processo.

Matsui (2006), em seu doutoramento no Laboratório de Engenharia de Alimentos da Escola Politécnica da USP, estudou o processamento da água de coco usando aquecimento por micro-ondas não focalizadas, e seus resultados indicaram efeitos não térmicos sobre a atividade da POD e PPO. Entretanto, o uso de equipamentos adaptados para os ensaios não permitiu uma avaliação reprodutível. Ainda, como a frequência de oscilação do campo elétrico difere entre aquecimentos ôhmico e por micro-ondas em ordens de grandeza, busca-se compreender se tal frequência influencia esses efeitos. Pretende-se quantificar os possíveis efeitos não térmicos de campos elétricos alternados com controle adequado do perfil de temperatura do produto ao longo do tempo, a fim de possibilitar a comparação entre aquecimentos eletrotérmicos e convencional. Serão comparados modelos cinéticos distintos para a inativação das enzimas PPO e POD em água de coco e PE em suco de laranja, estimando a incerteza associada às previsões desses modelos a fim de determinar condições de processamento para avaliar a produção destes importantes produtos.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO DO TRABALHO

O objetivo deste trabalho é estudar a inativação enzimática que ocorre no processamento térmico da água de coco verde e do suco de laranja por tecnologia de micro-ondas focalizadas e de aquecimento ôhmico. As enzimas deteriorantes consideradas são a polifenoloxidase (PPO) e a peroxidase (POD) em água de coco e a pectinesterase (PE) em suco de laranja. A inativação destas enzimas será estudada em processo descontínuo convencional, por micro-ondas focalizadas e por aquecimento ôhmico para o ajuste de modelos cinéticos e comparação de resultados para identificação de efeitos não térmicos e estimativa da incerteza da previsão dos modelos.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estimar os parâmetros de modelos cinéticos de inativação das enzimas PPO e POD em água de coco verde e da enzima PE em suco de laranja;
- Avaliar e comparar o ajuste dos modelos cinéticos de inativação;
- Comparar inativações obtidas por tratamentos térmicos por aquecimento convencional, por micro-ondas focalizadas e por aquecimento ôhmico sob condições de processamento semelhantes.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 PROCESSAMENTO DA ÁGUA DE COCO VERDE E DO SUCO DE LARANJA

3.1.1 *Água de coco verde*

A água de coco verde é a parte líquida do endosperma do fruto do coqueiro (*Cocos nucifera*). Até a década de 1980, a água de coco era um rejeito da industrialização das partes sólidas do fruto. Com a importação de cocos de países com produção subsidiada a partir da década de 1990, os produtores brasileiros buscaram novos mercados. A variedade anã, cultivar verde, é a mais plantada no Brasil para extração da água, devido à sua produção elevada e precoce e a uma colheita fácil (ABREU, 1999; ARAGÃO; ISBERNER; CRUZ, 2001; CARVALHO et al., 2006).

A água de coco verde é uma bebida tropical tradicionalmente consumida do fruto perto de regiões produtoras, e apresenta aroma e sabor característicos. É rica em minerais, de composição semelhante à do meio intracelular. Sacarose, glicose e frutose conferem à água de coco sabor adocicado e são os principais sólidos solúveis. Há pequenas quantidades de aminoácidos livres, proteínas e vitamina C. A água de coco apresenta baixo teor de lipídios, tornando-a um produto pouco calórico. Os nutrientes na água de coco são facilmente absorvidos pelo organismo (SANTOSO et al., 1996; ARAGÃO; ISBERNER; CRUZ, 2001; CARVALHO et al., 2006; PRADES et al., 2012b).

A composição da água de coco varia com a maturação do fruto. O teor de açúcares e sólidos solúveis aumenta com a maturação para então cair em frutos excessivamente maduros. À medida que o fruto amadurece, o pH da água de coco aumenta, enquanto a concentração de íons de sódio e ferro aumenta e a de potássio diminui. A composição da água de coco depende da variedade e do histórico do fruto – a água de coco não tem sua composição influenciada por pesticidas, mas o uso de adubos altera sua distribuição mineral (CAMPOS et al., 1996; CARVALHO et al., 2006; PRADES et al., 2012b; APPAIAH et al., 2014; TAN et al., 2014).

O contato com o ambiente após a extração leva à contaminação e à degradação da água de coco. Sendo um meio pouco ácido e rico em nutrientes, é propício ao desenvolvimento de micro-organismos. Ainda, as enzimas polifenoloxidase (PPO) e peroxidase (POD) catalisam reações com o oxigênio atmosférico levando a alterações

de cor e sabor e à destruição de nutrientes. A atividade das enzimas PPO e POD é tomada como indicador biológico da eficácia do tratamento térmico de água de coco por serem mais resistentes que micro-organismos patogênicos e deteriorantes. No caso de água de coco acidificada com aditivos, prática usual na indústria, o desenvolvimento dos micro-organismos patogênicos é inibido e as enzimas se tornam o principal alvo do processo. Sua inativação garante a inocuidade e previne a degradação enzimática (DUARTE; COELHO; LEITE, 2002; FONTAN et al., 2012).

3.1.2 Suco de laranja

A laranja doce (*Citrus sinensis*) surgiu na Ásia e apresenta dezenas de variedades, e hoje é industrializada em grande escala para produção de suco (LIMA, 2001; CITRUSBR, 2020). Sua importância econômica é antiga: Cruess (1914), aproveitando frutas rejeitadas, descreve um processo simples no qual o suco era clarificado e o líquido resultante era pasteurizado e envasado. Entre as décadas de 1930 e 1950 processos térmicos foram aprimorados buscando a conservação de nutrientes e a inativação de micro-organismos (LOESECKE; MOTTERN; PULLEY, 1934; LOEFFLER, 1941).

O suco de laranja é uma bebida ácida e pouco calórica, e seus principais minerais são potássio e cálcio. É uma bebida rica em ácido ascórbico (LIMA, 2001; ROSA et al., 2010; VERVOORT et al., 2011; BHARDWAJ et al., 2014; CITRUSBR; 2020). O suco de laranja também apresenta um amplo espectro de compostos bioativos como carotenoides e fenólicos com efeito antioxidante (PÉNICAUD et al., 2011; BHARDWAJ et al., 2014; NAYAK; LIU; TANG, 2015; CITRUSBR; 2020).

É interessante observar a mudança no perfil de produto do suco de laranja: Cruess (1914) afirma que o suco de laranja clarificado teria melhor aceitação, porém ao longo do século passado a retenção do aspecto opaco com partículas em suspensão (chamado comumente de nuvem) se tornou desejada pois é associada pelos consumidores à retenção de características do produto recém-extraído do fruto como aroma, cor e textura (ROUSE; ATKINS, 1952; EAGERMAN; ROUSE, 1976). Curiosamente, a busca dos consumidores por produtos menos “industrializados” e “processados” levou à aceitação de sucos de laranja pasteurizados que apresentem

alguma sedimentação, pois essa característica é vista como indicador de produto “fresco” (TIMMERMANS et al., 2011).

A perda da nuvem se dá após extração do líquido devido à ação da enzima pectinesterase (PE), presente nos tecidos vegetais. Moléculas responsáveis pela estrutura celular e pela retenção da suspensão de partículas no suco são degradadas pela PE. Isso causa a perda de cor, textura e aroma e viscosidade (JOLIE et al., 2010). A contaminação do suco por micro-organismos é de preocupação na indústria (PARISH, 1998; SAMANI et al., 2015); porém, a PE mostra-se mais resistente ao tratamento térmico e é usada como indicador da eficácia do processamento (EAGERMAN; ROUSE, 1976; NIKDEL; MACKELLAR, 1992).

Assim, a PE é frequentemente usada como alvo no processamento térmico – de fato, a inativação dessa enzima se confunde com a história do processamento do suco de laranja durante a segunda metade do século passado, devido a sua resistência térmica elevada e à presença de diversas isoformas enzimáticas da PE no suco de laranja (ROUSE; ATKINS, 1952, 1953; EAGERMAN; ROUSE, 1976; VERSTEEG et al., 1980; CHEN; WU, 1998). Pilnik e Voragen (1993) descrevem a inativação térmica da PE em sucos cítricos como “um dos problemas mais estudados na tecnologia de alimentos” (p. 387, tradução nossa).

3.1.3 Métodos de conservação tradicionais

A degradação da água de coco e do suco de laranja se inicia após exposição ao ambiente e torna necessária sua industrialização a fim de ampliar sua disponibilidade e permitir seu consumo em áreas distantes das produtoras. Rosa e Abreu (2000, p. 9) afirmam que “a aplicação de tecnologias de processamento e conservação da água de coco viabiliza o comércio desse produto”, pois soluciona problemas envolvendo o transporte, armazenamento e perecibilidade do fruto, aumentando a vida de prateleira e reduzindo custos e volumes.

No Brasil, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) define a água de coco como “a bebida não diluída, não fermentada, obtida da parte líquida do fruto do coqueiro”. A água de coco pasteurizada deve ter pH entre 4,30 e 4,50, máximo de sólidos solúveis 6,70 °Brix a 20 °C, potássio entre 140,00 e 230,00 mg/100 mL e sódio

entre 2,00 e 30,00 mg/100 mL. O produto esterilizado deverá ter pH entre 4,60 e 5,40, sendo mantidas as restrições para sólidos solúveis, potássio e sódio do produto pasteurizado. É permitida a adição de açúcares em quantidade inferior a 1 g/100 mL. Aditivos aprovados para sucos de frutas (exceto aromatizantes) podem ser usados, por exemplo ácidos ascórbico ou cítrico para adequação de pH e como antioxidantes, ou metabissulfitos de sódio ou de potássio como antioxidantes ou conservantes (BRASIL, 2009a, 2009b, 2013).

No Brasil, o MAPA define suco de laranja como a “bebida não fermentada e não diluída, obtida da parte comestível da laranja”. O produto deve apresentar cor amarela, sabor e aroma próprios, pelo menos 10,5 °Brix, pelo menos 25,00 mg de ácido ascórbico/100 mg, açúcares totais naturais/100 g \leq 13,00 g e fração volumétrica de óleos essenciais inferior a 0,035 %. O produto deve ainda conter relação de sólidos solúveis em °Brix/acidez em g/100 g de ácido cítrico anidro \geq 7,0, e pode conter células da própria fruta (BRASIL, 2000). A classificação segue os padrões de identidade e qualidade para sucos de frutas, que permitem adição de até 10 g/100 g de açúcares e proíbem aromas e corantes artificiais (BRASIL, 2009c).

Os processos de tratamento térmico da água de coco e do suco de laranja no país, de forma bastante simplificada, seguem as seguintes etapas (ROSA; ABREU, 2000; ARAGÃO; ISBERNER; CRUZ, 2001; BATES; MORRIS; CRANDALL, 2001; CABRAL; PENHA; MATTA, 2005; MAGALHÃES et al., 2005; SANTOS FILHO; MAGALHÃES; COELHO, 2005; CARVALHO et al., 2006; ABREU, FARIA, 2007; ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS, 2007; CITRUSBR, 2020):

- A colheita do coco deve ser realizada entre seis e nove meses de maturação do fruto. A colheita da laranja ocorre quando o fruto apresentar casca de cor laranja e suco com teor de sólidos solúveis entre 9 °Brix e 10 °Brix. Não devem ser usados frutos avariados ou colhidos do chão;
- Os frutos devem ser recebidos em local limpo. Cocos podem ser aceitos até 15 dias após a colheita, ou até 30 dias se transportados sob refrigeração. Laranjas podem ser armazenadas por até 2 meses após a colheita a 90 % de umidade relativa e 5 °C (temperaturas menores danificarão o fruto). Os frutos devem ser lavados com solução sanitizante e enxaguados;

- A etapa de extração da água de coco é crítica, pois é uma etapa lenta (normalmente manual). Deve-se minimizar o contato da água de coco com o ar e com a parte fibrosa do fruto. Já a extração da laranja costuma ser automatizada, separando a casca, o bagaço e o suco. Nesta etapa se inicia a degradação dos produtos;
- O líquido extraído dos frutos é separado dos resíduos sólidos por filtração ou centrifugação. Na etapa de formulação do produto podem ser adicionados conservantes, antioxidantes e acidulantes visando padronizar o produto e atender à legislação;
- O alimento é então tratado em trocador de calor. A pasteurização ocorre entre 70 °C e 95 °C (a eventual esterilização comercial ocorre a aprox. 140 °C). Os binômios tempo-temperatura devem ser definidos de maneira a otimizar cada processo, garantindo a manutenção das características originais do produto, mas tendo como prioridade a segurança ao consumo. O suco de laranja destinado à produção de concentrado é pasteurizado em evaporadores que elevarão o teor de sólidos solúveis do produto; caso contrário, o suco é desaerado. O produto é então resfriado e envasado assepticamente para evitar recontaminação;
- O produto pode ser distribuído à temperatura ambiente se foi comercialmente esterilizado; caso contrário, deve ser comercializado sob refrigeração.

O envase asséptico pode apresentar custos proibitivos para o pequeno e médio produtor (BATES; MORRIS; CRANDALL, 2001; ROSA; ABREU, 2000). Processos nos quais o envase ocorre antes do resfriamento ou do aquecimento podem ser viáveis (SILVA et al., 2003; COSTA et al., 2005).

Segundo Aragão, Isberner e Cruz (2001, p. 25), as aplicações concomitantes de diferentes tratamentos (como aquecimento, refrigeração e aditivos) “se baseiam na combinação de técnicas de preservação de forma a estabelecer uma série de fatores de conservação (obstáculos), nos quais qualquer micro-organismo deteriorante presente não seria capaz de sobreviver”. A eficácia dos tratamentos convencionais em inativar micro-organismos e enzimas, no entanto, vem acompanhada de alterações indesejáveis nos alimentos.

Campos et al. (1996) observaram que a inativação completa das enzimas PPO e POD em água de coco só foi possível com temperaturas acima de 90 °C e tempos de retenção de 550 s e 310 s, respectivamente, enquanto alterações sensoriais foram relatadas para processamentos de aprox. 100 s. Murasaki-Aliberti et al. (2009) também relatam a elevada resistência térmica das enzimas POD e PPO em água de coco quando submetidas à pasteurização descontínua. Abreu e Faria (2007) usaram trocador de calor a placas para esterilizar água de coco entre 138 °C e 144 °C durante 10 s, adicionando 100 ou 200 mg/L de ácido ascórbico. Em todas as condições de processamento foi observada inativação da POD e alteração da cor do produto. Carvalho et al. (2006) relatam que o efeito antioxidante da água de coco *in natura* diminui drasticamente com os aditivos ou tratamentos térmicos.

A recomendação tradicional no tratamento de suco de laranja é a inativação de 99 % da PE, o que equivaleria à exposição a 90 °C por 1 min (EAGERMAN; ROUSE, 1976; VERSTEEG et al., 1980; WICKER; TEMELLI, 1988; CHEN; WU, 1998). No entanto, nessas condições ocorre a degradação da vitamina C, que devido a sua importância e sensibilidade térmica é usada como indicador de qualidade (ÜLGEN; ÖZILGEN, 1991; POLYDERA; STOFOROS; TAOUKIS, 2003). Efeitos deletérios do processamento nos antioxidantes do suco de laranja são bem documentados na literatura (GAMA; SYLOS, 2007; PÉNICAUD et al., 2011; STINCO et al., 2012; BHARDWAJ et al., 2014; NAYAK; LIU; TANG, 2015; ACHIR et al., 2016). Tribess et al. (2009) relatam alterações sensoriais significativas em suco de laranja minimamente processado (85 °C por 9,1 s) após armazenamento a 4 °C.

Segundo Rawson et al. (2011) e Nayak, Liu e Tang (2015), a degradação dos nutrientes, características sensoriais e compostos bioativos pela temperatura incentivou o desenvolvimento de novas tecnologias de processamento na industrialização de alimentos.

3.1.4 Métodos de conservação alternativos

Na Tabela 3.1 são apresentados alguns estudos de métodos de conservação aplicados a água de coco e suco de laranja classificados como “alternativos” por não se basearem somente no tratamento térmico por meios já estabelecidos. Awuah, Ramaswamy e Economides (2007) ressaltam que novas tecnologias de

processamento devem ser estudadas para avaliar sua robustez e eficiência, sempre em comparação com os métodos já estabelecidos a fim de justificar sua substituição.

Tabela 3.1: Resumo de atrativos e desafios de tecnologias alternativas de processamento de água de coco verde e de suco de laranja (continua)

Produto	Processo	Atrativos	Desafios	Referências
Água de coco	Perfuração do fruto e bombeamento da água de coco	<ul style="list-style-type: none"> • Extração asséptica sem contato com fibras, ar ou luz • Uso comercial já relatado 	<ul style="list-style-type: none"> • Entupimento com endosperma sólido • Patentes arquivadas por falta de pagamento indicam baixo interesse 	Soergel (2001); Dalvi e Berger (2002); Indústria Tecmint de Equipamentos LTDA (2003); Martins (2007); Patel (2013); Obrigado (2020)
Água de coco	Alta pressão hidrostática	<ul style="list-style-type: none"> • Comercialmente disponível • Baixas temperaturas de processamento 	<ul style="list-style-type: none"> • Mudança de cor devido à baixa inativação de enzimas • Necessário armazenamento sob refrigeração • Inadequado para alimentos pouco ácidos 	Invo (2018); Estados Unidos da América (2020); Unoco (2016); Harmless Harvest (2020)
Água de coco	Aquecimento por micro-ondas	<ul style="list-style-type: none"> • Aquecimento rápido e volumétrico • Possível efeito adicional da radiação 	<ul style="list-style-type: none"> • Penetração de radiação não uniforme na amostra 	Matsui (2006); Matsui et al. (2007, 2008)
Água de coco	Combinação de pressão, temperatura e CO ₂	<ul style="list-style-type: none"> • Retenção de compostos voláteis e características sensoriais 	<ul style="list-style-type: none"> • Tratamento de pequenos volumes por longos tempos • Inativação reversível de micro-organismos 	Cappelletti, Ferrentino e Spilimbergo (2014); Cappelletti et al. (2015); Marchi et al. (2015)
Água de coco	Micro e ultrafiltração	<ul style="list-style-type: none"> • Temperatura ambiente • Melhor aceitação em painel de análise sensorial 	<ul style="list-style-type: none"> • Retenção de nutrientes • Alteração de propriedades físicas • Necessário armazenamento sob refrigeração 	Magalhães et al. (2005); Reddy; Das, M. e Das, S. K. (2007); Mahnot et al. (2014)
Água de coco	Ultravioleta	<ul style="list-style-type: none"> • Temperatura ambiente • Elevada inativação enzimática 	<ul style="list-style-type: none"> • Longos tempos de processamento • Necessário armazenamento sob refrigeração 	Augusto et al. (2015); Gautam et al. (2017); Bhullar et al. (2018)

Tabela 3.1: Resumo de atrativos e desafios de tecnologias alternativas de processamento de água de coco verde e de suco de laranja (conclusão)

Produto	Processo	Atrativos	Desafios	Referências
Água de coco	Ultrassom	<ul style="list-style-type: none"> Alteração na conformação de enzimas Inativação por cavitação 	<ul style="list-style-type: none"> Longos tempos de processamento Baixa inativação enzimática Necessário combinar com outro processo 	Rojas, Trevilin e Augusto (2016); Rojas et al. (2017)
Suco de laranja	Alta pressão hidrostática	<ul style="list-style-type: none"> Comercialmente disponível Baixas temperaturas de processo 	<ul style="list-style-type: none"> Necessário armazenamento sob refrigeração Patógenos sobrevivem a altíssimas pressões 	Basak e Ramaswamy (1996); Parish (1998); Polydera, Stoforos e Taoukis (2003)
Suco de laranja	Aquecimento por micro-ondas	<ul style="list-style-type: none"> Aquecimento rápido e volumétrico Possível efeito adicional da radiação 	<ul style="list-style-type: none"> Penetração de radiação não uniforme Degradação de vitamina C 	Tajchakavit e Ramaswamy (1995, 1997); Cinquanta et al. (2010); Fratianni, Cinquanta e Panfili (2010); Demirdöven e Baysal (2015)
Suco de laranja	Aquecimento ôhmico	<ul style="list-style-type: none"> Aquecimento rápido e volumétrico Possível efeito da corrente elétrica 	<ul style="list-style-type: none"> Incrustação na superfície dos eletrodos 	Demirdöven e Baysal (2015)
Suco de laranja	Combinação de pressão, temperatura e CO ₂	<ul style="list-style-type: none"> Retenção de propriedade físicas Intensificação de efeitos térmicos 	<ul style="list-style-type: none"> Longos tempos de processamento 	Balaban et al. (1991)

Fonte: o próprio autor (2020)

Processos térmicos e não térmicos devem ser otimizados, buscando diminuir as alterações indesejadas no alimento para aproveitar os benefícios do processamento. Para isso, são importantes informações sobre os mecanismos das alterações do alimento e a aplicação dos conceitos cinéticos (VAN BOEKEL et al., 2010).

3.2 MODELOS CINÉTICOS DE INATIVAÇÃO ENZIMÁTICA

3.2.1 Enzimas

Parkin (1993) afirma que “uma enzima pode ser definida como um polipeptídeo que catalisa uma reação com algum grau de especificidade” (p.7, tradução nossa). Essa definição sucinta evidencia a composição e a função das enzimas, que apresentam quatro níveis de estrutura (PRICE; STEVENS, 1991; WHITAKER, 2003):

- Primária: estrutura unidimensional da molécula, corresponde à sequência linear dos aminoácidos (tipicamente de 90 a 2300 aminoácidos ou de 10 kDa a 250 kDa de peso molecular), e deriva diretamente do código genético;
- Secundária: estrutura bidimensional, na qual a molécula se deforma em um plano devido à interação entre aminoácidos;
- Terciária: estrutura tridimensional da molécula, devido a uma dobra causada pela interação entre aminoácidos proveniente da estrutura primária;
- Quaternária: existência de diversas subunidades (moléculas distintas) em uma enzima, formando um complexo.

Quando a enzima está em meio aquoso, uma parte da água deixa de ser livre e se liga à enzima, mantendo grupos hidrofóbicos no interior da molécula. Nessa conformação tridimensional, a enzima é estável e apresenta o menor nível de energia possível. Assim, a presença de água em reações catalisadas por enzimas não é importante só por ser meio reacional e de transporte, mas também por ajudar a enzima a manter e recuperar sua estrutura terciária. A maior parte dos aminoácidos presentes nas enzimas tem por função definir sua estrutura, e não constitui sítios ativos que participam de reações. A estrutura terciária de proteínas é consequência da estrutura primária, que por sua vez tem origem no código genético; assim, enzimas de alimentos distintos podem apresentar estrutura terciária e, portanto, resistência térmica variável. A função catalisadora da enzima e a especificidade com a qual a realiza estão intimamente ligadas à estrutura terciária, pela qual a enzima orienta o substrato, aumentando o tempo de exposição a sítios ativos e favorecendo colisões moleculares efetivas. Da mesma forma, a perda dessa estrutura terciária acarreta na inativação da enzima e na perda de sua capacidade de catálise (PRICE; STEVENS, 1991; PARKIN, 1993; WHITAKER, 2003).

A unidade de atividade enzimática no Sistema Internacional é o katal, e corresponde a 1 mmol/s de consumo de reagente ou formação de produto (PARKIN, 1993). A medição da atividade de PPO e POD por meios espectrofotométricos é bastante comum, pois de acordo com a lei de Beer-Lambert a absorvância de uma solução diluída em um comprimento de onda específico é diretamente proporcional à concentração. Assim, o aumento da absorvância em função do tempo é uma medida indireta da formação de produto. Costuma-se utilizar a unidade U para a atividade enzimática, que corresponde a um aumento de 10^{-3} na absorvância por mL por min (CAMPOS et al., 1996; SUN; SONG, 2003; MATSUI et al., 2008; NDIAYE; XU; WANG, 2009; NAVARRO et al., 2014; AUGUSTO et al., 2015). A medida de atividade da PE, tradicionalmente, se dá adicionando pectina a uma amostra e então a taxa média de formação do produto da reação enzimática é estimada pelo consumo de NaOH, sob condições constantes (usualmente 30 °C e pH 7,5 durante 30 min) (ROUSE; ATKINS, 1953; ELEZ-MARTÍNEZ; SUÁREZ-RECIO; MARTÍN-BELLOSO, 2007).

3.2.2 Peroxidase, polifenoloxidase e pectinesterase

Peroxidase (EC: 1.11.1.7), é uma oxirredutase de peso molecular entre 40 kDa e 50 kDa, com um íon de ferro em sua estrutura que dehidrogeniza compostos fenólicos na presença de H_2O_2 (PÜTTER; BECKER, 1983; ROBINSON, 1991a; YUAN; JIANG, 2003). Correlações empíricas foram observadas entre a atividade da POD e a degradação das características sensoriais em alimentos, incluindo vegetais congelados a -18 °C por longos períodos (ROBINSON, 1991a). A isoforma mais abundante e estudada da POD é a proveniente de raiz forte; sua estrutura e seus mecanismos reacionais já estão estabelecidos, conforme extensa e detalhada revisão de Robinson (1991a) – embora o autor afirme que nem sempre é possível estender esse conhecimento a isoformas de outras origens.

Polifenoloxidase (ou tirosinase ou fenolase) é um termo usado para designar duas enzimas com íons de cobre e que atuam em conjunto (MAYER; HAREL, 1991; HAMMER, 1993; RAMÍREZ; WHITAKER; VIRADOR, 2003):

- monofenol oxidase ou cresolase (EC: 1.14.18.1): hidroxila um monofenol formando um o-difenol;
- o-difenol oxidase ou catecol oxidase (EC 1.10.3.1): oxida um o-difenol formando benzoquinonas, que reagem entre si formando pigmentos escuros.

Apesar das isoformas enzimáticas de vegetais e fungos serem diferentes, em todos os casos o mecanismo reacional de degradação catalisado pela PPO depende fortemente da interação dos átomos de cobre da enzima com o grupo fenólico do substrato (ESKIN, 1990; ZAWISTOWSKI; BILIADERIS; ESKIN, 1991).

Pectinesterase, ou PE (também conhecida como pectase ou pectina metilesterase – EC 3.1.1.11) é uma hidrolase específica de peso molecular entre 25 kDa e 54 kDa que catalisa a demetoxilação de polissacarídeos chamados pectinas, formando grupos carboxila adicionais na cadeia do polímero. As pectinas, responsáveis pelas propriedades estruturais de tecidos vegetais, sofrem então degradação posterior, como ligação a íons de cálcio. A PE é resistente a altas pressões, pode apresentar alguma atividade entre -20 °C e 70 °C e é ubíqua entre vegetais. É muito utilizada na extração e clarificação de sucos e na indústria de chás e bebidas fermentadas (PILNIK; VORAGEN, 1991, 1993; CHAMARRO; ALONSO; GARCIA-MARTINEZ, 1993; BENEN; VAN ALEBEEK; VORAGEN, 2003; JOLIE et al., 2010).

Muitos inibidores enzimáticos não podem ser usados em alimentos. SO₂ ou (metabi)sulfitos são inibidores de PPO eficazes e autorizados em níveis baixos (BRASIL, 2013), embora causem alterações nas propriedades organolépticas dos alimentos (ESKIN, 1990; ZAWISTOWSKI; BILIADERIS; ESKIN, 1991) e não sejam eficazes contra a PE (CRUESS, 1914). Campos et al. (1996) determinaram que 100 mg/L de K₂S₂O₅ não alterou o sabor da água de coco, porém 150 mg/L eram necessários para inativar completamente a PPO (sem inativação satisfatória da POD). Sucupira et al. (2015) combinaram 50 mg/L de Na₂S₂O₅ com tratamento térmico de água de coco e observaram a inativação da PPO e uma correlação entre mudança de cor e SO₂ residual. É comum a menção a uma proteína termorresistente que inibe a PE por impedimento estérico, isolada de kiwis por Castaldo et al. (1991). Essa proteína é específica para a PE, atua contra isoformas de diversos vegetais e é segura ao consumo. Esse aditivo, no entanto, altera o sabor dos sucos cítricos (PILNIK; VORAGEN, 1991, 1993; JOLIE et al., 2010).

A redução do pH é outra maneira de inibir a ação enzimática, e ácido ascórbico é frequentemente usado na indústria de alimentos. Tal ácido tem ainda o efeito adicional de se oxidar no processo de conversão das quinonas em o-difenois, retardando a

degradação causada pela PPO. Por fim, o ácido ascórbico é uma importante vitamina (ESKIN, 1990; ZAWISTOWSKI; BILIADERIS; ESKIN, 1991). A adição de ácido ascórbico com a classificação de acidulante ao invés de conservante (BRASIL, 2013) permite que produtos sejam comercializados como “sem conservantes” e “ricos em vitamina C” (OBRIGADO, 2020).

PPO, POD e PE, devido às suas elevadas resistências térmicas, podem ser usadas como indicadores da extensão e eficácia de tratamentos térmicos, embora haja relatos da sobreativação (aumento da atividade) e da reativação (recuperação de atividade) da POD (ESKIN, 1990; ROBINSON, 1991a, 1991b; HAMMER, 1993) e da PPO (YEMENICIOĞLU; ÖZKAN; CEMEROĞLU, 1997; FALGUERA et al., 2013a). Aguiar; Yamashita e Gut (2012), avaliando integradores de tempo-temperatura enzimáticos, observaram que a cinética de inativação da POD variou com a taxa de aquecimento, com provável sobreativação. Campos et al. (1996), Murasaki-Aliberti et al. (2009) e Tan et al. (2014) confirmaram a alta resistência térmica de POD e PPO em água de coco verde. Uma redução de 99 % na atividade original da PE é sugerida no tratamento térmico convencional de suco de laranja, devido à PE se mostrar mais termorresistente que patógenos (VERSTEEG et al., 1980; AGHAJANZADEH; ZIAIIFAR, 2018).

Estudos relatam formas enzimáticas distintas, com resistências variando com a espécie, variedade e origem do vegetal. Tan et al. (2014) estimaram parâmetros de modelo de inativação térmica da PPO e da POD, e encontraram valores distintos dependendo do estágio de maturação do fruto. Robinson (1991a) reconhece que uma distribuição de resistências em uma população de isoformas enzimáticas de POD explicaria parcialmente a não linearidade observada em algumas isotermas experimentais de inativação (conforme seção 3.2.3). Sabe-se que as proporções relativas de isoformas da PE apresentam complexa distribuição temporal e espacial em cada espécie de planta, e determinam suas propriedades e resistência (ROUSE, 1953; EVANS; MCHALE, 1977; VERSTEEG et al., 1980; JOLIE et al., 2010).

A importância e a abrangência da PPO, da POD e da PE e sua ação na deterioração de alimentos são evidenciadas pelo interesse em estudar sua inativação ao avaliar tratamentos alternativos ao processamento térmico. Estudou-se a inativação dessas enzimas por pulsos de campos magnéticos (MA; HUANG; ZU, 2009) ou elétricos

(ZHONG et al., 2007; ELEZ-MARTÍNEZ; SUÁREZ-RECIO; MARTÍN-BELLOSO, 2007), radiação ultravioleta (FALGUERA et al., 2013b; SAMPEDRO; FAN, 2014), plasma a frio (PANKAJ; MISRA; CULLEN, 2013), ultrassom (TIWARI et al., 2008; ROJAS et al., 2017) e altas pressões (SAMPEDRO; RODRIGO; HENDRICKX, 2008). Além dos tratamentos alternativos visando à aplicação na indústria alimentícia e da inativação da PPO, da POD ou da PE, os trabalhos citados neste parágrafo compartilham também o uso de modelos matemáticos alternativos àquele já consolidado para descrever a cinética de inativação enzimática.

3.2.3 Modelos de inativação térmica

O modelo tradicionalmente usado para descrever a inativação no tratamento térmico de alimentos é o modelo de primeira ordem, que teve sua origem nos experimentos de Krönig e Paul¹ (1897 apud CHICK, 1908) e de Madsen e Nyman² (1907 apud CHICK, 1908). O modelo é apresentado na eq.(3.1), na qual N é o número de micro-organismos, N_0 é o número de micro-organismos no tempo t inicial e k é a taxa de reação. Chick (1908) observou que a dependência de k com a temperatura segue a clássica equação de Arrhenius. Essa dependência é descrita na eq.(3.2), na qual E_a é a energia de ativação, R é a constante universal dos gases, T é a temperatura absoluta e k_r é o valor de k na temperatura de referência T_r . Chick (1908) e Watson (1908) já destacavam que a inativação era análoga a uma reação química monomolecular irreversível, e que tal simplicidade era surpreendente.

$$\frac{dN}{dt} = -kN \Rightarrow \int_{N_0}^N \frac{dN}{N} = -k \int_0^t dt \Rightarrow \ln \frac{N}{N_0} = -kt \quad (3.1)$$

$$k = k_r \exp\left(-\frac{E_a}{R} \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{T_r}\right)\right) \quad (3.2)$$

Posteriormente, Bigelow (1921) e Ball³ (1923 apud PFLUG; HOLCOMB; GÓMEZ, 2001) apresentaram um modelo semelhante e de aplicação prática em processos térmicos de destruição de micro-organismos em alimentos. O então chamado modelo

¹ KRÖNIG, B.; PAUL, T. H. Die Chemischen Grundlegen der Lehre von der Giftwirkung und Desinfektion. **Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten**, v. 25, n. 1, p. 1-112, 1897.

² MADSEN, T.; NYMAN, M. Zur Theorie der Desinfektion. **Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten**, v. 57, n. 1, p. 388-404, 1907.

³ BALL, C. O. Thermal processing time for canned foods. In: **Bulletin of the National Research Council** n. 37 v. 7 Part 1, Washington: National Research Council, 1923. 76 p.

geral é apresentado na eq.(3.3), na qual D é o tempo de redução decimal e corresponde ao tempo de exposição à temperatura de processo necessário para reduzir a população em um fator de dez vezes. Sua dependência com a temperatura está expressa na eq.(3.4), em que D_r é o valor de D em T_r e z é chamado de valor- z , e corresponde ao aumento na temperatura de processo que diminui o valor de D em dez vezes. Convém ressaltar que a relação linear entre $\log(D)$ e T expressa na eq.(3.4) é empírica (PFLUG; HOLCOMB; GÓMEZ, 2001).

$$\log \frac{N}{N_0} = -\frac{t}{D} \quad (3.3)$$

$$D = D_r 10^{-\frac{T-T_r}{z}} \quad (3.4)$$

A temperatura de referência T_r deve estar contida no intervalo experimental usado para estimar os parâmetros, e deve ser escolhida de modo que minimize a correlação entre eles. Lewis e Heppell (2000) afirmam que o modelo secundário de Arrhenius permite extrapolações melhores para temperaturas fora desse intervalo, e que se justificaria por ter embasamento teórico (ao contrário do modelo empírico proposto para $D(T)$ na eq.(3.4)). No entanto, os autores também afirmam que as diferenças entre as duas formas do modelo de primeira ordem são desprezíveis e menores que o erro experimental. Peleg, Normand e Corradini (2012) se opõem ao uso do modelo secundário de Arrhenius, que também qualificam como empírico, questionando conclusões da linearidade dos dados de $\ln(k)$ em função de $1/T$ e afirmando que as estimativas dos parâmetros cinéticos de reações bioquímicas deveriam ser verificadas independentemente em sistemas mais simples que alimentos para minimizar interferências. Há ainda que se considerar a maior dificuldade em interpretar os parâmetros do modelo de Arrhenius em relação aos do modelo de Bigelow (estes em temperatura e tempo, grandezas mais próximas do cotidiano e das operações industriais).

O modelo de primeira ordem também é tradicionalmente usado para descrever a perda de atividade enzimática em alta temperatura. Considera-se normalmente que a desnaturação de uma enzima pelo calor se deve à perda da estrutura terciária pela quebra de ligações intramoleculares devido à maior agitação a nível atômico. Essa perda ocorre inicialmente em uma etapa reversível de equilíbrio rápido (desprezada)

da forma ativa a uma desnaturada, e posteriormente em uma etapa irreversível a um estado inativo que corresponde à etapa lenta da reação (LUNDGREN; WILLIAMS, 1939; BISCHOFF, 1944; CHASE, 1950; LUMRY; EYRING, 1954).

Nesse caso, nas eqs.(3.1) e (3.3), as variáveis N e N_0 são substituídas por A e A_0 , que correspondem, respectivamente, à atividade enzimática e à atividade enzimática inicial. Graficando-se $\log(A/A_0)$ em função do tempo, obtém-se uma linha reta decrescente para uma dada temperatura – a curva obtida é chamada de isoterma de inativação. Atualmente, o uso dos valores de D e z para descrever a resistência térmica de micro-organismos e enzimas e para avaliar ou projetar processos de tratamento de alimentos é tão difundido que muitos livros-texto sequer se dão ao trabalho de dar qualquer indicação sobre a origem do modelo (IBARZ; BARBOSA-CÁNOVAS, 2002; TEIXEIRA, 2006, 2007; TOLEDO, 2007; FELLOWS, 2009; ERKMEN; BARAZI, 2012).

Uma hipótese importante para aplicar este modelo em estudos de cinética de inativação é a de temperatura uniforme ao longo do produto tratado. Caso essa hipótese não seja válida, por razões de segurança deve ser tomada a temperatura no ponto do alimento de aquecimento mais lento (ou escoamento mais rápido no caso de processamento contínuo). Conseqüentemente, as partes do alimento de aquecimento mais rápido (ou escoamento mais lento) serão expostas à temperatura de processo por um tempo maior que o necessário para garantir a inocuidade, levando a um sobreprocessamento. Isso acarretará em perdas de características sensoriais e desperdício de energia. Outra hipótese adotada em estudos cinéticos de inativação é a de que o tratamento térmico é ideal, com aquecimento e resfriamento instantâneos e retenção isotérmica na temperatura de processo. Na prática, há rampas de aquecimento e resfriamento que contribuem com a inativação das enzimas ou dos micro-organismos alvo e também com a degradação de componentes do alimento (PELEG et al., 2008). Para considerar o efeito de todo o histórico tempo-temperatura $T(t)$ do tratamento, empregou-se a função letalidade Lt definida na eq.(3.5) para o modelo secundário de Arrhenius ($k-E_a$). A letalidade integrada F_{T_r} é o tempo de processo ideal a T_r que resulta em uma inativação equivalente à do processo não ideal com histórico $T(t)$. Reescrevendo a eq.(3.1) para processos não ideais de

inativação enzimática, tem-se a eq.(3.6) (TEIXEIRA, 2006, 2007; TOLEDO, 2007; ERKMEN; BARAZI, 2012). Os parâmetros do modelo são dois: k_r e E_a .

$$Lt(t) = \exp\left(-\frac{E_a}{R}\left(\frac{1}{T(t)} - \frac{1}{T_r}\right)\right) \quad (3.5)$$

$$\ln\frac{A}{A_0} = -k_r \int_0^t Lt(t)dt = -k_r F_{T_r} \quad (3.6)$$

Para o modelo secundário de Bigelow (D - z), a função letalidade Lt é definida na eq.(3.7). Reescrevendo a eq.(3.3) para processos não isotérmicos de inativação enzimática e considerando o modelo secundário de Bigelow, tem-se a eq.(3.8) (TEIXEIRA, 2006, 2007; TOLEDO, 2007; ERKMEN; BARAZI, 2012). Os parâmetros do modelo são dois: D_r e z .

$$Lt(t) = 10^{\frac{T(t)-T_r}{z}} \quad (3.7)$$

$$\log\frac{A}{A_0} = -\frac{\int_0^t Lt(t)dt}{D_r} = -\frac{F_{T_r}}{D_r} \quad (3.8)$$

É inesperado que um fenômeno complexo como a inativação de micro-organismos ou de enzimas seja descrito por uma relação simples como o modelo de primeira ordem, e de fato foram observados desvios desse comportamento. Van Loey et al. (2003) apresentam outros modelos para a inativação térmica de enzimas, adaptações do modelo de primeira ordem. Um desses modelos é o modelo fracional da eq.(3.9), que considera a existência de uma fração enzimática resistente A_∞/A_0 que não sofre inativação nas condições avaliadas. A isoterma cai linearmente em tempos menores e tende assintoticamente ao valor $\log(A_\infty/A_0)$ para tempos maiores (Figura 3.1). O modelo apresenta três parâmetros: D_r , z e A_∞/A_0 .

$$\frac{A}{A_0} = \left(1 - \frac{A_\infty}{A_0}\right) 10^{-\frac{F_{T_r}}{D_r}} + \frac{A_\infty}{A_0} \quad (3.9)$$

Outro modelo bastante usado para descrever isotermas de inativação enzimática não lineares é o modelo de duas frações da eq.(3.10). Ele também considera a existência de conjuntos de isoformas enzimáticas com resistências térmicas distintas, comumente chamadas de estável (subscrito s) e lábil (subscrito l). Cada fração

seguiria uma cinética de inativação de primeira ordem independente (Figura 3.1). O parâmetro α corresponde à fração da isoforma estável em relação à atividade total antes do tratamento térmico (FUJIKAWA; ITOH, 1996; TOLEDO, 2007; GONZALES-BARRON, 2012).

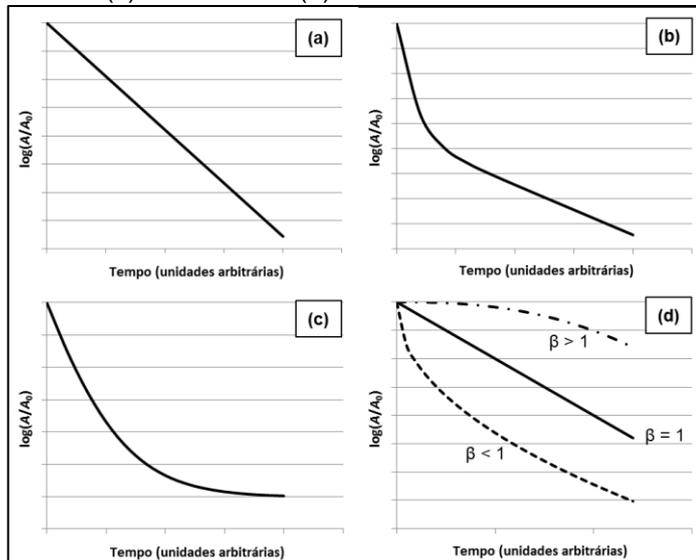
$$\frac{A}{A_0} = \alpha 10^{-\frac{F_{T_r,s}}{D_{r,s}}} + (1 - \alpha) 10^{-\frac{F_{T_r,l}}{D_{r,l}}} \quad (3.10)$$

O modelo pode ser generalizado para um número arbitrário de $m \in \mathbb{N}^+$ isoformas, conforme mostrado nas eqs.(3.11) e (3.12). O modelo conta com $3m - 1$ parâmetros: m valores de D_r , m valores de z e $m - 1$ valores de α .

$$\frac{A}{A_0} = \left(\sum_{i=1}^{m-1} \alpha_i 10^{-\frac{F_{T_r,i}}{D_{r,i}}} \right) + \left(1 - \sum_{i=1}^{m-1} \alpha_i \right) 10^{-\frac{F_{T_r,m}}{D_{r,m}}} \quad (3.11)$$

$$F_{T_r,i} = \int_0^t 10^{\frac{T(t)-T_r}{z_i}} dt \quad \forall i = 1, \dots, m \quad (3.12)$$

Figura 3.1 – Simulação de formas das isotermas de inativação para o modelo de primeira ordem (a), de duas frações (b), fracional (c) e de Weibull (d)



Fonte: o próprio autor (2020)

Aguiar, Yamashita e Gut (2012) usaram o modelo de duas frações ao avaliar o desempenho das enzimas lactoperoxidase, POD e fosfatase alcalina em solução tampão fosfato como integradores tempo-temperatura de processos de pasteurização. Matsui (2006) observou esse comportamento para a POD em água de coco submetida a pasteurização descontínua por micro-ondas. Augusto et al. (2015)

ajustaram esse modelo para a inativação de PPO e POD por ultravioleta em uma solução simulando água de coco.

Os desvios do modelo de primeira ordem são às vezes justificados como erros experimentais ou na aquisição de dados, como diferentes mecanismos cinéticos concomitantes ou como uma resistência de agregações de micro-organismos e enzimas (LEWIS; HEPPELL, 2000; AWUAH; RAMASWAMY; ECONOMIDES, 2007). Peleg e Cole (1998), contudo, questionam contundentemente tal abordagem, afirmando que em nenhuma outra área da biologia se assume que elementos de uma população têm resistência idêntica a um agente letal – Chick (1908) já observava que algumas bactérias apresentavam fortes desvios da linearidade, atribuídos a “diferenças permanentes na resistência de organismos individuais com idades distintas” (p. 116, tradução nossa). Segundo Peleg e Cole (1998), o sucesso histórico do modelo de Bigelow se deve a práticas de sobreprocessamento que acabam por inutilizar o uso do modelo. Os autores propõem uma abordagem na qual o tempo letal de exposição a dada temperatura é uma variável aleatória de distribuição unimodal, o que representaria uma distribuição de resistências da população. Uma distribuição bastante usada é a de Weibull, que descreve o tempo até a falha de sistemas mecânicos e elétricos. O modelo de inativação de Weibull é apresentado na eq.(3.13), na qual β é o fator de forma e D'_r é o tempo até a primeira redução decimal (WEIBULL, 1951; HAHN; SHAPIRO, 1967; GONZALES-BARRON, 2012).

$$\log \frac{A}{A_0} = - \left(\frac{F_{Tr}}{D'_r} \right)^\beta \quad (3.13)$$

O fator de forma define o formato da distribuição de resistências e, conseqüentemente, da isoterma de inativação (Figura 3.1). $\beta > 1$ implica em taxas crescentes de inativação com o tempo; por exemplo, devido a uma resistência inicial ou a uma adaptação de micro-organismos ao calor, seguida pela inativação por estresse acumulado. $\beta < 1$ implica em taxas decrescentes de inativação; por exemplo, isoformas mais frágeis da enzima sendo inativadas primeiro. No caso particular de $\beta = 1$, o modelo se degenera ao de primeira ordem. Van Boekel (2002), em uma revisão sobre o uso do modelo de Weibull na inativação de células vegetativas, afirma que β aparenta ser independente da temperatura, e que o parâmetro cinético aparenta ter

uma relação empírica com T semelhante à da eq.(3.4) (substituindo D_r por D'_r). Assim, o modelo de Weibull contaria com três parâmetros: D'_r , z e β .

Uma complicação surge ao utilizar o modelo de Weibull: para $\beta \neq 1$, a taxa instantânea de inativação \dot{s} depende de t , o que fica evidente derivando a eq.(3.13) para obter a eq.(3.14). Na verdade, \dot{s} depende da inativação no respectivo instante, o que se observa isolando t na eq.(3.13) e substituindo na eq.(3.14) obtendo assim a eq.(3.15). Isso implica que a resistência térmica de uma população de enzimas ou micro-organismos depende da população sobrevivente em um dado instante. Assim, não é possível utilizar a letalidade integrada da eq.(3.7) (MAFART et al., 2002; CHEN; CAMPANELLA; CORVALAN, 2007; CORRADINI; PELEG, 2007, 2009).

$$\dot{s} = \frac{d(\log A/A_0)}{dt} \Big|_T = -\frac{\beta t^{\beta-1}}{D'_T{}^\beta} \quad (3.14)$$

$$\dot{s} = -\frac{\beta}{D'_T} (-\log A/A_0)^{\frac{\beta-1}{\beta}} \quad (3.15)$$

A atividade residual pode ser calculada integrando as taxas instantâneas de inativação ao longo do tempo de processo (eq.(3.16)), assumindo temperatura constante em um pequeno intervalo de tempo dt . Resolve-se numericamente a eq.(3.16) discretizando o tempo de processamento em passos no tempo Δt suficientemente pequenos e calculando a inativação do instante i a partir da inativação no instante $i - 1$ anterior para evitar um cálculo implícito de $(\log A/A_0)_i$, conforme a eq.(3.17). Podemos então calcular F_{T_r} pela eq.(3.18) (CHEN; CAMPANELLA; CORVALAN, 2007; CORRADINI; PELEG, 2007, 2009).

$$\log A/A_0 = \int_0^t \dot{s} dt = -\int_0^t \frac{\beta}{D'_T} (-\log A/A_0)^{\frac{\beta-1}{\beta}} dt \quad (3.16)$$

$$\log A/A_0 = -\sum_{i=1}^{t/\Delta t} \frac{\beta}{D'_T} (-\log A/A_0)_{i-1}^{\frac{\beta-1}{\beta}} \Delta t \quad (3.17)$$

$$F_{T_r} = -D'_r (\log A/A_0)^{1/\beta} \quad (3.18)$$

Nota-se que se $\beta = 1$, as eqs.(3.16) ou (3.18) resultam na conhecida e tradicional eq.(3.8). É importante ressaltar que as eqs.(3.14) a (3.18) valem para β independente

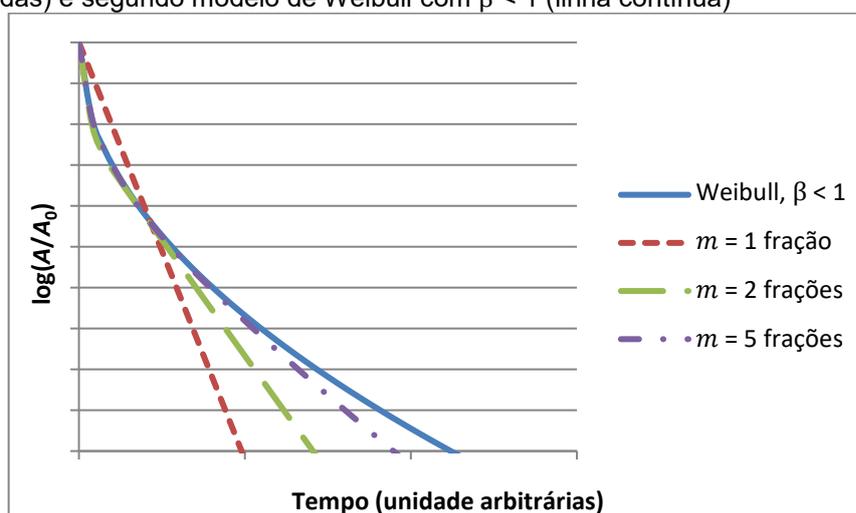
do tempo ou da temperatura (o que significaria assumir que o mecanismo de inativação permanece constante ao longo do processamento). Peleg et al. (2008) afirmam que uma mesma população de micro-organismos exposta a históricos $T(t)$ diferentes apresentaria resistências distintas à uma mesma temperatura.

Cabe aqui reafirmar o ponto exposto claramente por Mafart et al. (2002): devido à origem matemática distinta, não é possível realizar uma analogia direta de $Lt(t)$ (eq.(3.7)) ao modelo cinético de inativação de Weibull – isto é, não basta apenas adicionar o fator de forma β à eq.(3.8). No entanto, aparentemente isto não é compreendido e difundido o suficiente na literatura científica da área de alimentos: não há destaque à dependência de \hat{s} com t ou $\log A/A_0$ no modelo de Weibull em diversos trabalhos recentes de inativação de micro-organismos (COUVERT et al., 2005; SERMENT-MORENO et al., 2014, 2015, 2017; BÉCHET et al., 2017; GUÉRIN et al., 2017) e de enzimas (MA; HUANG; ZU, 2009; FALGUERA et al., 2013a, 2013b; PANKAJ; MISRA; CULLEN, 2013; SAMPEDRO; FAN, 2014; CRIADO et al., 2015; SAXENA; MAKROO; SRIVASTAVA, 2017). Nesses trabalhos, que em alguns casos incluem comparações com outros modelos cinéticos e tempos de rampa apreciáveis, os autores não esclarecem detalhes dos cálculos – tais como o cálculo de F_{T_r} , o tamanho de Δt ou o valor definido para $(\log A/A_0)_0 \lesssim 0$ necessário para o primeiro termo da eq.(3.17).

Aparentemente, as diferenças entre os modelos de primeira ordem e de Weibull na inativação de micro-organismos e enzimas são tema controverso na literatura (LEWIS; HEPPELL, 2000; HELDMAN; NEWSOME, 2003; INSTITUTE OF FOOD TECHNOLOGISTS, 2020; HALDER; DATTA; GEEDIPALLI, 2007; PELEG, 2007; GONZALES-BARRON, 2012; ESTADOS UNIDOS DA AMÉRICA, 2020). No entanto, apesar das abordagens distintas de origem, o modelo de Weibull (ou um modelo baseado em outra distribuição unimodal de resistências) é apenas mais um modelo empírico que se baseia na existência de parcelas da população com resistências diferentes – mesmo ignorando a razão dessas diferenças. O mesmo pode ser dito dos modelos fracional e de m frações apresentados anteriormente. De fato, se $\beta < 1$, a isoterma prevista pelo modelo de m frações tende àquela prevista pelo modelo de Weibull quando $m \rightarrow \infty$, pois nesse caso limite entende-se que cada elemento individual da população tem sua própria resistência térmica, formando uma

distribuição aproximadamente contínua. Uma interpretação alternativa, gráfica, é a de que a isoterma curvilínea do modelo de Weibull poderia ser aproximada (ou discretizada) por um número suficientemente grande de isotermas lineares, cada uma correspondente a uma das m isoformas (Figura 3.2). A interação de enzimas com componentes do alimento (MATSUI, 2006), a adaptação de micro-organismos, mecanismos de ativação de esporos, a agregação de enzimas ou micro-organismos (AUGUSTO et al., 2015) ou outros fatores podem levar a essa distribuição de resistência ao tratamento térmico. Convém ressaltar que Van Boekel (2002) e Barsa, Normand e Peleg (2012) recomendam cautela ao associar significado físico a parâmetros ajustados de modelos empíricos.

Figura 3.2 – Comparação de comportamentos de isotermas segundo modelos de $m = 1, 2$ e 5 frações (linhas tracejadas) e segundo modelo de Weibull com $\beta < 1$ (linha contínua)



Fonte: o próprio autor (2016)

O modelo de Weibull, devido a sua versatilidade, é usado comumente para descrever a inativação de micro-organismos por calor e por outros métodos, com diferentes modelos secundários para a dependência dos parâmetros com o agente letal, embora o fator de forma seja frequentemente considerado independente da temperatura (PELEG, 2002; COUVERT et al., 2005; CORRADINI; PELEG, 2009; SERMENT-MORENO et al., 2015). Ele também já foi usado para descrever a inativação da PPO e da POD, especialmente em novas tecnologias de processamento de alimentos (MA; HUANG; ZU, 2009; FALGUERA et al., 2013a, 2013b; PANKAJ; MISRA; CULLEN, 2013; SAMPEDRO; FAN, 2014; SERMENT-MORENO et al., 2014, 2017; CRIADO et al., 2015; SAXENA; MAKROO; SRIVASTAVA, 2017). Peleg e Cole (1998)

interpretaram efeitos combinados de composição e pressão em tratamentos térmicos como uma mudança na distribuição das resistências ao calor.

3.2.4 Ajuste de modelos

Ao ajustar diversos modelos aos dados experimentais, surge a necessidade de critérios de comparação. Van Belle (2002) e Van Boekel (2008) desencorajam o uso do coeficiente de determinação R^2 e recomendam o princípio da parcimônia, conhecido como Navalha de Occam: o modelo que apresenta ajuste satisfatório com menor número de parâmetros ajustáveis deve ser selecionado. Bates e Watts (1988) afirmam que “se há razões para preferir um modelo sobre os outros, forte peso deve ser dado às razões [científicas] do pesquisador porque o objetivo principal da análise de dados é explicar o comportamento dos dados, não simplesmente conseguir o melhor ajuste” (p.107, tradução nossa). Schokker e Van Boekel (1997) sugerem ainda a comparação de critérios objetivos, que relacionam o número de dados experimentais n , o número de parâmetros p do modelo e o desvio-padrão σ_{res} das diferenças entre os valores previstos pelo modelo e os medidos experimentalmente. Ljung (1999) apresenta diversos desses critérios: o erro de previsão final de Hocking J_p (eq.(3.19)), a estatística S_p (eq.(3.20)), o erro de previsão final de Akaike AIC (eq.(3.21)) e o critério de informação Bayesiano BIC (eq.(3.22)). Quanto menor o valor dos critérios para um dado modelo, mais adequado é seu ajuste.

$$J_p = \sigma_{res}^2(p + n) \quad (3.19)$$

$$S_p = \sigma_{res}^2 \frac{(n - p)}{(n - p + 1)(n - p - 1)} \quad (3.20)$$

$$AIC = 2\frac{p}{n} + \ln\left(\sigma_{res}^2 \frac{n - p}{n}\right) \quad (3.21)$$

$$BIC = \ln\left(\sigma_{res}^2 \frac{n - p}{n} \left(1 + \frac{p \ln n}{n}\right)\right) \quad (3.22)$$

Giner-Seguí, Elez-Martínez e Martín-Belloso (2009) e Falguera et al. (2013a) utilizaram alguns desses critérios ao comparar ajustes de modelos de inativação de PE por pulsos de campos elétricos e de PPO por pressão e temperatura, respectivamente. Segundo Hahn e Shapiro (1967), a aplicação de modelos estatísticos e a consideração de distribuições de probabilidade permitiria projetos mais confiáveis ao lidar com variações de forma mais razoável e adequada. Van Boekel

(1996, 2008) propõe para a engenharia de alimentos o uso de modelos que incluam a variabilidade de sistemas biológicos e a incerteza sobre o sistema.

3.2.5 Incerteza dos parâmetros do modelo ajustado

Alimentos, devido à sua composição biológica, são materiais heterogêneos complexos; logo, há incerteza na modelagem de suas propriedades e alterações. A seleção de modelos e processos, portanto, se beneficiaria de uma abordagem Bayesiana em diversas etapas da cadeia de produção (VAN BOEKEL, 2004). A abordagem Bayesiana na estatística considera a probabilidade não como uma simples frequência relativa de eventos repetidos, mas como uma medida genérica e ampla da incerteza sobre uma grandeza desconhecida (HAHN; SHAPIRO, 1967). Técnicas Bayesianas não retornam uma estimativa fixa para um parâmetro, mas o consideram como uma variável aleatória e estimam sua distribuição (FEARN, 2004; O'HAGAN, 2004; SOLONEN, 2006).

Para o caso de modelos não lineares, é possível obter apenas aproximações da incerteza dos parâmetros a partir de relações para modelos lineares. Em um modelo com parâmetros $\theta_1, \dots, \theta_j, \dots, \theta_p$, seus desvios-padrão podem ser estimados a partir da matriz jacobiana \mathbf{J} definida na eq.(3.23), e a partir do erro quadrático médio MSE da eq.(3.24). MSE é uma estimativa da variância do erro experimental aleatório a partir dos resíduos do modelo, as diferenças entre os valores experimental (subscrito *exp*) e calculado (subscrito *calc*) da atividade enzimática residual A/A_0 . As derivadas parciais na eq.(3.23) correspondem à sensibilidade da previsão do modelo ao valor dos parâmetros. A matriz de covariância \mathbf{Cov} é calculada segundo a eq.(3.25), e os elementos de sua diagonal principal correspondem às variâncias $\sigma_{\theta_j}^2$ dos parâmetros, conforme a eq.(3.26) (DRAPER; SMITH, 1981; BATES; WATTS, 1988; BUZZI-FERRARIS, 2000). Em alguns modelos não lineares, não é possível obter expressões analíticas das derivadas parciais – por exemplo, no modelo de inativação térmica apresentado na eq.(3.8). Nesse caso, pode-se estimar o valor das derivadas pelo método das diferenças finitas como na eq.(3.27), na qual $\Delta\theta_j$ é uma pequena perturbação no valor ajustado do parâmetro θ_j (OSTERMANN, 2005).

$$\mathbf{J} = \begin{pmatrix} \frac{\partial A/A_{0_{calc1}}}{\partial \theta_1} & \dots & \frac{\partial A/A_{0_{calc1}}}{\partial \theta_p} \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ \frac{\partial A/A_{0_{calc_n}}}{\partial \theta_1} & \dots & \frac{\partial A/A_{0_{calc_n}}}{\partial \theta_p} \end{pmatrix} \quad (3.23)$$

$$MSE = \sum_{i=1}^n \frac{(A/A_{0_{exp_i}} - A/A_{0_{calc_i}})^2}{n-p} \quad (3.24)$$

$$\mathbf{Cov} = MSE(\mathbf{J}^T \mathbf{J})^{-1} \quad (3.25)$$

$$\sigma_{\theta_j}^2 = \text{diag}(\mathbf{Cov})_j \quad \forall j = 1, \dots, p \quad (3.26)$$

$$\frac{\partial A/A_{0_{calc_i}}}{\partial \theta_j} \approx \frac{A/A_{0_{calc_i}}(\theta_j + \Delta\theta_j) - A/A_{0_{calc_i}}(\theta_j)}{\Delta\theta_j} \quad \forall j = 1, \dots, p \quad (3.27)$$

Outra maneira de quantificar a incerteza na estimativa dos parâmetros é pelos de métodos de Monte Carlo. Essa denominação engloba diversas metodologias estocásticas baseadas na amostragem aleatória de certa distribuição. Os métodos de Monte Carlo, por serem computacionalmente intensivos, se beneficiaram da evolução e disseminação tecnológica das últimas décadas e são úteis na estimativa da incerteza de parâmetros em modelos não lineares, nos quais a obtenção de expressões analíticas nem sempre é possível (FISHMAN, 1996; SOLONEN, 2006). Um tipo de método de Monte Carlo, chamado de (re)amostragem, consiste em gerar amostras a partir de um conjunto de dados experimentais. Dentre esses métodos podem-se destacar o *bootstrap* suavizado e o *jackknife*.

O método de *bootstrap* consiste em tomar aleatoriamente dados de uma amostra experimental e gerar uma amostra “pseudo-experimental”. No *bootstrap* suavizado, um erro aleatório é acrescido a cada valor amostrado, relativo à incerteza e à variação na medida. Assim, pode-se considerar cada amostra pseudo-experimental como uma repetição simulada de todo um conjunto de experimentos. Para cada amostra simulada, uma nova estimativa dos parâmetros do modelo é obtida; a partir de um número suficientemente elevado de simulações, pode-se estimar a distribuição dos parâmetros (HAHN; SHAPIRO, 1967; O’HAGAN, 2004; LANDAU; BINDER, 2009). Poschet et al. (2003), usando o *bootstrap* suavizado, observaram que a média das distribuições obtidas para os parâmetros era semelhante ao valor dos parâmetros ajustados a partir dos dados experimentais para um número suficientemente grande

de amostras. Deve ser feita uma hipótese sobre o erro aleatório introduzido; assim como em outras técnicas da abordagem Bayesiana, informação *a priori* é necessária. Críticos dessa abordagem afirmam que essas hipóteses subjetivas invalidam resultados e conclusões. Lopes e Tobias (2011) argumentam que essa subjetividade também está presente em abordagens clássicas e na própria escolha do modelo a ser avaliado, bem como no projeto experimental, no tratamento de dados e na escolha de critérios para comparação e avaliação dos ajustes dos modelos. Segundo O'Hagan (2004), tal subjetividade seria meramente explicitada em metodologias Bayesianas, requerendo evidências para justificar a informação *a priori* e corrigindo-a a partir de novos dados diminuindo gradativamente seu peso nas conclusões. Os autores reconhecem que a sensibilidade dos resultados à informação *a priori* deve ser estudada.

Outro método de Monte Carlo de reamostragem é o *jackknife*. Esse método consiste em retirar um valor da amostra de dados experimentais, estimar os parâmetros, devolver à amostra o valor retirado e retirar um novo, repetindo o processo. Os pseudo-valores dos parâmetros $\theta_{(i),j}$ são então calculados segundo a eq.(3.28), a partir da estimativa θ_j do j -ésimo parâmetro considerando todos os pontos e da estimativa $\theta_{i,j}$ do j -ésimo parâmetro retirando-se o i -ésimo ponto. Calcula-se a média dos pseudo-valores $\bar{\theta}$ e então o desvio-padrão σ_{θ_j} do parâmetro é calculado conforme a eq.(3.29) (BRILLINGER, 1966; MILLER, 1974; LANDAU; BINDER, 2009).

$$\theta_{(i),j} = n\theta_j - \theta_{i,j}(n-1) \quad \forall j = 1, \dots, p \quad (3.28)$$

$$\sigma_{\theta_j} = \sqrt{\sum_{i=1}^n \frac{(\theta_{(i),j} - \bar{\theta})^2}{n(n-1)}} \quad \forall j = 1, \dots, p \quad (3.29)$$

Halder, Datta e Geedipalli (2007) utilizaram um método de Monte Carlo para estimar as incertezas nas determinações dos parâmetros do modelo de primeira ordem e do modelo dinâmico de Weibull proposto por Peleg e PENCHINA (2000), a fim de associar essa incerteza à comparação das previsões dos modelos. Poschet et al. (2003) e Van Boekel (2008) realçam a possibilidade de utilizar métodos de Monte Carlo para obter informações sobre a incerteza dos parâmetros e assim garantir a segurança na microbiologia preditiva e a qualidade de alimentos processados. Awuah, Ramaswamy

e Economides (2007) afirmam que a estimativa das incertezas nas previsões dos modelos de inativação permite uma melhor comparação e avaliação do desempenho das novas tecnologias de processamento de alimentos.

3.3 TRATAMENTO TÉRMICO DE ALIMENTOS POR MICRO-ONDAS E POR AQUECIMENTO ÔHMICO

3.3.1 *Propriedades de interesse no aquecimento ôhmico e por micro-ondas*

Em alimentos, o aquecimento por campos elétricos se dá pela rotação de dipolos elétricos permanentes e pela movimentação de íons (condução iônica). O calor gerado pela rotação de dipolos é devido ao atrito na movimentação de moléculas polares como a água, que se alinham ao campo elétrico oscilante, com alguma defasagem devido à rápida frequência de inversão do campo. A contribuição desse fenômeno aumenta com a frequência e não pode ser desprezada nas altas frequências do aquecimento por micro-ondas. Já o calor gerado pela condução iônica se deve ao efeito Joule de íons se movendo por um meio resistivo sob a aplicação de um campo elétrico, gerando corrente. Esse é o mecanismo dominante nas baixas frequências usadas no aquecimento ôhmico (JACOB; CHIA; BOEY, 1995; TANG; HAO; LAU, 2002; TEWARI, 2007; BERK, 2009; SAXENA; CHANDRA, 2011; SENSOY, 2012; TANG, 2015; GUO et al., 2017). Materiais biológicos como alimentos apresentam permeabilidade magnética semelhante à do vácuo e assim geram calor a partir de micro-ondas apenas pela interação com campos elétricos (TANG; HAO; LAU, 2002; TANG, 2015).

As micro-ondas compreendem a faixa do espectro eletromagnético de frequência entre 300 MHz e 300 GHz. Elas sofrem pouca atenuação por nuvens ou pela atmosfera e, portanto, são usadas em radares e aparelhos de comunicação. Convenções internacionais alocaram faixas de frequência para aplicações médicas, científicas e industriais de micro-ondas conforme a Tabela 3.2 (TANG; HAO; LAU, 2002; TANG, 2015).

Tabela 3.2: Faixas de frequência das micro-ondas alocadas para aplicações científicas, médicas e industriais em diferentes regiões

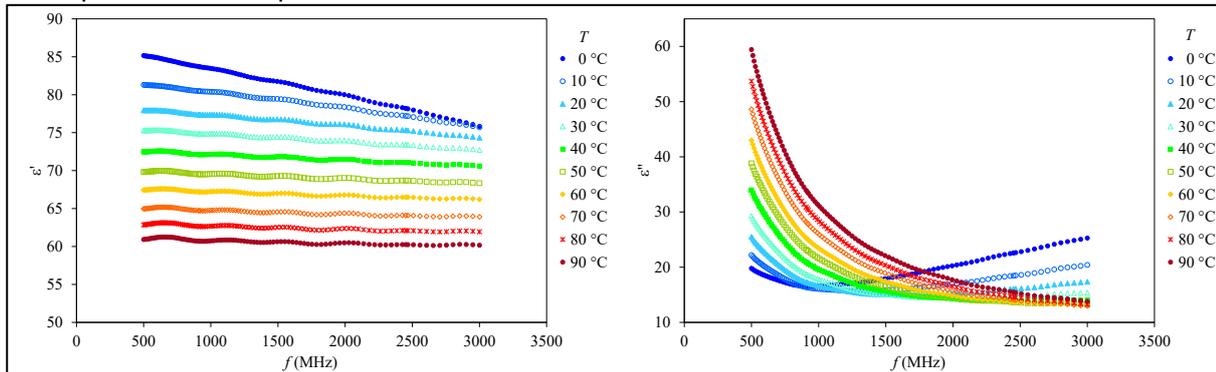
Frequência (MHz)	Comprimento de onda (m)	Regiões
896 ± 10	0,335 ± 0,004	Grã-Bretanha
915 ± 13	0,328 ± 0,005	Continente americano
2375 ± 50	0,126 ± 0,003	Antiga União Soviética
2450 ± 50	0,122 ± 0,003	Todos os países, exceto a antiga União Soviética

Fonte: adaptado de Tang, Hao e Lau (2002) e de Tang (2015)

A conversão da energia do campo elétrico das micro-ondas em energia térmica é determinada pelas propriedades dielétricas do meio. Essas propriedades são a permissividade elétrica relativa ϵ' (referente ao armazenamento de energia na forma de polarização) e o fator de perda ϵ'' (referente à liberação de energia na forma de calor). Essas propriedades são relativas às do vácuo e dependem fortemente da concentração de íons ou moléculas polares no meio (NELSON; DATTA, 2001; REGIER; SCHUBERT, 2001; TANG; HAO; LAU, 2002; BERK, 2009; TANG, 2015).

Franco et al. (2015) avaliaram a influência da temperatura (0 °C a 90 °C) e da frequência (0,5 a 3,0 GHz) nas propriedades dielétricas da água de coco. O vale nas curvas de ϵ'' em função da temperatura (Figura 3.3) indica a transição entre os mecanismos de condução iônica e rotação de dipolos, que possuem contribuições opostas com relação ao aumento da frequência e da temperatura. Franco et al. (2015) ajustaram modelos empíricos polinomiais para estimar as propriedades dielétricas de água de coco verde em função da temperatura para as frequências comerciais de 915 MHz e 2450 MHz. A medida das propriedades dielétricas de alimentos líquidos é realizada por sondas coaxiais calibradas ligadas a analisadores de rede, devido à simplicidade e precisão do método (REGIER; SCHUBERT, 2001; TANG; HAO; LAU, 2002; CORONEL; SIMUNOVIC; SANDEEP, 2003; SALAZAR-GONZÁLEZ et al., 2012; FRANCO et al., 2015).

Figura 3.3: Permissividade elétrica relativa ϵ' e fator de perda ϵ'' de amostra de água de coco em função da frequência e da temperatura



Fonte: Franco et al., 2015

No aquecimento ôhmico, a condutividade elétrica do meio é a propriedade física de maior interesse, pois dela depende ϵ'' e, portanto, a geração de calor por condução iônica. Correlações empíricas lineares entre a condutividade elétrica e T são frequentemente válidas, desde que mantidas constantes a estrutura e a composição do meio. Costuma-se adotar a condutividade como independente da frequência, o que de fato não vale nas baixas frequências de 50 Hz ou 60 Hz de uso comum no aquecimento ôhmico (SASTRY, 2005; FRYER; PORRAS-PARRAL; BAKALIS, 2011; SENSOY, 2012; VICENTE et al., 2012; GUO et al., 2017). Um material com condutividade muito baixa não conduz eletricidade, porém uma condutividade elevada leva a pouca geração de calor. Assim, processos por aquecimento ôhmico são aplicáveis entre condutividades elétricas de 0,01 S/m e 10 S/m (KNIRSCH et al., 2010; FRYER; PORRAS-PARRAL; BAKALIS, 2011; CHEN, 2015), faixa na qual se encontram alimentos líquidos e sólidos (SARANG; SASTRY; KNIPE, 2008; ZHANG, 2009).

Uma onda eletromagnética perde energia enquanto atravessa um meio. Define-se a profundidade de penetração dp da onda no meio como a distância percorrida até que sua potência seja $1/e = 1/2,718 = 36,79\%$ da potência incidente. Para uma onda incidindo perpendicularmente sobre um meio semi-infinito, dp depende do comprimento de onda da micro-onda no vácuo λ , ou da velocidade da luz no vácuo c e da frequência f da onda, conforme a eq.(3.30) (NELSON; DATTA, 2001; TANG; HAO; LAU, 2002; CHANDRASEKARAN; RAMANATHAN; BASAK, 2013; TANG, 2015). Quanto menor, mais energia a micro-onda perde ao atravessá-lo. Processos baseados na aplicação de micro-ondas, como a pasteurização de alimentos, devem

ser projetados estimando-se a profundidade de penetração para avaliar se todo o volume está exposto à radiação (CORONEL; SIMUNOVIC; SANDEEP, 2003).

$$dp = \frac{\lambda}{2\pi \sqrt{2\varepsilon' \left[\sqrt{1 + \left(\frac{\varepsilon''}{\varepsilon'}\right)^2} - 1 \right]}} = \frac{c}{2\pi f \sqrt{2\varepsilon' \left[\sqrt{1 + \left(\frac{\varepsilon''}{\varepsilon'}\right)^2} - 1 \right]}} \quad (3.30)$$

3.3.2 Processamento de alimentos por micro-ondas

Em 1940, o engenheiro elétrico americano Percy Spencer auxiliava cientistas ingleses a avaliar o uso de micro-ondas para radares na Segunda Guerra Mundial, quando percebeu que micro-ondas poderiam aquecer alimentos (REGIER; SCHUBERT, 2001). Ele submeteu um pedido de patente em 1945, publicada em 1950 (RAYTHEON MANUFACTURING COMPANY, 1950, 1952). Os primeiros fornos foram introduzidos na indústria em 1955, e fornos domésticos de tamanho razoável surgiram em 1965 (THIPPAREDDI; SANCHEZ, 2006; TEWARI, 2007). Hoje, a tecnologia de micro-ondas para aquecimento de alimentos sólidos é uma prática estabelecida na indústria. Os principais usos incluem secagem residual de massas e grãos, pré-cozimento de bacon, têmpera de grandes blocos congelados de carne e de suco e aquecimento doméstico e comercial de produtos semi-prontos (REGIER; SCHUBERT, 2001; TEWARI, 2007; FELLOWS, 2009). O equipamento consiste basicamente em um gerador de micro-ondas a partir de energia elétrica, normalmente um magnetron, do qual uma guia de ondas metálica conduz a radiação até uma cavidade onde se encontra o alimento (SHARMA; MULVANEY; RIZVI, 2000; REGIER; SCHUBERT, 2001; SAXENA; CHANDRA, 2011; SALAZAR-GONZÁLEZ et al., 2012).

A principal vantagem do aquecimento por micro-ondas é o rápido aquecimento volumétrico pelo fato da micro-onda atravessar o meio e promover aquecimento no próprio material de interesse, em contraste com métodos tradicionais nos quais a transferência de calor a partir de um intermediário se dá do exterior ao interior do material de forma possivelmente lenta (DATTA, 2001; REGIER; SCHUBERT, 2001; SALAZAR-GONZÁLEZ et al., 2012; CHANDRASEKARAN; RAMANATHAN; BASAK, 2013). O aquecimento em volume leva a menor sobreprocessamento das camadas externas do alimento líquido em tubo. Já as altas taxas de aumento da temperatura possíveis com o uso de micro-ondas permitem uma maior retenção de nutrientes

termicamente sensíveis, pois o tempo de aquecimento menor para atingir a temperatura de processo leva a uma menor exposição de componentes sensíveis do alimento à temperatura. Os equipamentos usados no aquecimento por micro-ondas são menores, permitem a manutenção de uma planta mais limpa e tem controle fácil – pois a fonte de energia pode ser instantaneamente ligada e desligada (TEWARI, 2007; SALAZAR-GONZÁLEZ et al., 2012; TANG, 2015).

Nas últimas décadas, tem surgido o interesse de aplicar a tecnologia de micro-ondas no tratamento térmico de alimentos líquidos tais como sucos e purês. Além das vantagens já expostas, o aquecimento em volume levaria a uma menor incrustação, uma vez que o alimento não entra em contato com uma superfície sobreaquecida como ocorre em aquecimentos tradicionais (CORONEL; SIMUNOVIC; SANDEEP, 2003; SALAZAR-GONZÁLEZ et al., 2012). Algumas dificuldades em implementar o aquecimento de alimentos líquidos por micro-ondas já foram superadas, como o desenvolvimento de instrumentos para medição acurada da temperatura que não sofram interferência da radiação e a construção de tubos de materiais cerâmicos e poliméricos transparentes às micro-ondas (TEWARI, 2007; TANG, 2015). Esses materiais, no entanto, não permitem operação a altas pressões, e a tecnologia de micro-ondas apresenta elevado custo inicial (TEWARI, 2007; STEED et al., 2008).

Yousefi et al. (2012) compararam tratamentos térmicos descontínuos de suco concentrado de romã. Avaliando aquecimentos convencional e por micro-ondas, este último apresentou menor alteração de cor e maior retenção de atividade antioxidante. Os autores concluíram que o tempo de aquecimento (menor no processo por micro-ondas) teve maior impacto na qualidade do produto que a temperatura ou o modo de aquecimento. Marszałek, Mitek e Skąpska (2015) compararam aquecimento convencional e por micro-ondas na inativação térmica da PPO e da POD em purê de morango. As enzimas se mostraram termorresistentes em ambos os tratamentos, mas o aquecimento por micro-ondas, mais rápido, se mostrou “muito menos destrutivo” (p. 1874, tradução nossa), com menor degradação de compostos fenólicos e vitamina C e maior aceitação em painel de análise sensorial.

A principal desvantagem do tratamento por micro-ondas é que a distribuição de temperaturas no alimento pode não ser uniforme e é de difícil previsão, dependendo da transmissão, absorção e reflexão de ondas eletromagnéticas dentro e fora do

alimento. Há ainda que se considerar a dependência das propriedades dielétricas com a temperatura e a transferência de calor por condução/convecção limitante, o que pode levar a elevados gradientes de temperatura no alimento e ao indesejado e conhecido fenômeno de *thermal runaway* (a absorção mais intensa de micro-ondas por partes do alimento que já estão mais quentes) (ZHANG; DATTA, 2001; TANG; HAO; LAU, 2002; ZHAO, 2006; SALVI et al., 2009). Ao contrário do aquecimento convencional, o ponto de aquecimento mais lento do alimento não é evidente, o que levanta preocupações por parte de alguns autores sobre a segurança de tais tratamentos térmicos (FRYER, 1997). Para alimentos viscosos, Coronel et al. (2005) e Kumar et al. (2008) propuseram um escoamento laminar no tratamento contínuo por micro-ondas, a fim de expor a porção mais rápida do fluido à maior intensidade do campo elétrico, no centro do tubo. Agitadores estáticos após cada seção de aquecimento permitiram obter uma distribuição de temperatura homogênea.

Inicialmente, estudos e processos eram conduzidos em cavidades multimodais como os fornos de micro-ondas domésticos, nas quais a interação entre as ondas e a cavidade leva a vários pontos de maior intensidade. Tais equipamentos apresentam problemas de reprodutibilidade (MATSUI, 2006; SAXENA; CHANDRA, 2011), e vem sendo gradativamente substituídos na academia e na indústria por aparelhos com cavidades monomodais, nas quais a forma e as dimensões da cavidade e das amostras levam a uma focalização das micro-ondas, permitindo melhor aproveitamento da energia e maior reprodutibilidade dos processos e experimentos (DÍAZ-ORTÍZ et al., 2011; KAPPE, 2013; KAPPE; PIEBER; DALLINGER, 2013).

3.3.3 *Processamento de alimentos por aquecimento ôhmico*

Costuma-se iniciar textos listando os diversos nomes alternativos do processamento por aquecimento ôhmico – aquecimento Joule, aquecimento eletrocondutivo, eletroaquecimento, aquecimento por resistência (ou resistência elétrica, ou resistência direta) – embora a própria expressão “aquecimento ôhmico” seja mais usada. Tal processo consiste em inserir eletrodos em um alimento contido em uma cavidade isolante e aplicar uma diferença de potencial elétrico, gerando um campo elétrico oscilante (normalmente de baixas frequências como 50 Hz ou 60 Hz) no qual partículas carregadas se movem formando uma corrente e aquecendo o alimento por efeito Joule (SASTRY, 2005; FELLOWS, 2009; KNIRSCH et al., 2010; FRYER;

PORRAS-PARRAL; BAKALIS, 2011; VARGHESE et al., 2014; YILDIZ; GUVEN, 2014; CHEN, 2015; KAUR; SINGH, 2016).

O aquecimento ôhmico foi usado com relativo sucesso entre as décadas de 1910 e 1930 para a esterilização de leite. No entanto, a falta de regulações e de materiais inertes para a construção dos eletrodos, bem como os altos custo e risco da eletricidade à época, levaram ao abandono da tecnologia. Nos anos 1980, houve um novo interesse no aquecimento ôhmico para processamento térmico de alimentos particulados. Após o patenteamento de um processo no Reino Unido em 1992, a academia e a indústria passaram a estudar o aquecimento ôhmico de alimentos com motivação revigorada. Hoje, a tecnologia é de uso comercial, embora ainda relativamente pouco difundida e usada principalmente no processamento de fatias de frutas e legumes e de produtos de tomate (SASTRY, 2005; FRYER; PORRAS-PARRAL; BAKALIS, 2011; SENSOY, 2012; VICENTE et al., 2012; SAKR; LIU, 2014; YILDIZ; GUVEN, 2014; CHEN, 2015;). Fryer, Porras-Parral e Bakalis (2011) destacam que a aplicação da tecnologia justamente no processamento térmico de alimentos multifásicos ainda não foi realizada com grande sucesso.

De forma semelhante ao aquecimento por micro-ondas, a principal vantagem do aquecimento ôhmico é a geração rápida e volumétrica de energia térmica no próprio produto a ser aquecido, devido ao alimento ser atravessado por um campo elétrico oscilante. Essa característica torna essa tecnologia ideal para líquidos viscosos ou com partículas sólidas – é possível, via adição de sais, controlar as condutividades elétricas das fases líquida e sólida para que tais sólidos se aqueçam mais rapidamente que o fluido, algo de grande interesse na segurança de alimentos mas impossível com processos térmicos convencionais (RAMASWAMY; MARCOTTE, 2006; KNIRSCH et al., 2010; SENSOY, 2012; VICENTE et al., 2012; CHEN, 2015). Há ainda relatos de alta eficiência energética e baixos custos de manutenção de processos por aquecimento ôhmico (SENSOY, 2012; VICENTE et al., 2012).

O aquecimento ôhmico também compartilha desvantagens com o aquecimento por micro-ondas. Algumas delas são o alto custo inicial de investimento, a dificuldade na modelagem e simulação para determinação do ponto de menor temperatura (crucial para a segurança no processamento de alimentos) e a necessidade de projeto

altamente específico para produto e processo determinados (SASTRY et al., 2002; VICENTE et al., 2012; KAMONPATANA et al., 2013a, 2013b).

Um ponto crítico do aquecimento ôhmico é o contato dos eletrodos com os alimentos. Na superfície dos eletrodos, ocorrem reações eletrolíticas com os compostos do alimento, com possível contaminação e redução da eficiência. O uso de corrente alternada não elimina totalmente as reações eletrolíticas devido às baixas frequências comumente usadas. Essa ocorrência pode ser reduzida aumentando a frequência do campo ou usando eletrodos de materiais nobres (e caros) (SASTRY et al., 2002; SASTRY, 2005; SENSOY, 2012; VARGHESE et al., 2014; GUO et al., 2017).

O aquecimento ôhmico já foi utilizado com sucesso no processamento de alimentos líquidos para inativação de micro-organismos patogênicos na forma de esporos (SOMAVAT et al., 2012; SOMAVAT; MOHAMED; SASTRY, 2013) ou de células vegetativas (KIM; KANG, 2015; KIM et al., 2016; RODRIGUES et al., 2017). O aquecimento ôhmico também já foi usado na inativação de enzimas de interesse em alimentos, incluindo a PPO e PE (CASTRO et al., 2004; DEMIRDÖVEN; BAYSAL, 2015; MAKROO et al., 2017; MAKROO; RASTOGI; SRIVASTAVA, 2017; SAMARANAYAKE; SASTRY, 2016a, 2016b; SAXENA; MAKROO; SRIVASTAVA, 2017). Castro et al. (2004), em particular, demonstram a importância de determinar se indicadores tradicionais de tratamentos térmicos podem ser usados para novas tecnologias a fim de evitar subprocessamento que comprometa a segurança ao consumo. Cabe ressaltar que alguns dos trabalhos aqui citados apresentam gráficos com isotermas de inativação claramente não lineares (Figura 3.1), mas o modelo de primeira ordem da eq.(3.3) é frequentemente usado.

Há relatos contraditórios sobre a suposta retenção de características de alimentos após a comparação entre os aquecimentos ôhmico e convencional (KNIRSCH et al., 2010). Achir et al. (2016) não observaram manutenção aprimorada do perfil de carotenoides em sucos cítricos. A degradação da vitamina C em polpa de acerola parece depender pouco da frequência do campo elétrico e ser independente da temperatura, além de ser igual à do aquecimento convencional (MERCALI et al., 2014a, 2014b; JAESCHKE; MARCZAK; MERCALI, 2016). Makroo et al. (2017) relatam que o aquecimento ôhmico provocou maiores alterações no pH e menores

alterações na cor do suco de melancia que o aquecimento por imersão em banho térmico, sem diferenças no conteúdo de fenólicos totais e de licopeno. Makroo, Rastogi e Srivastava (2017) relatam menor degradação da vitamina C pelo aquecimento ôhmico mas taxas semelhantes de degradação de cor. Park; Balasubramaniam e Sastry (2014) combinaram processamento ôhmico, térmico e por pressão para melhorar a retenção de carotenoides e textura de cenouras.

Sensoy (2012), Jaeger et al. (2016) e Silva, V., Santos e Silva, A. (2017) apresentam um resumo pertinente dos desenvolvimentos necessários à tecnologia de aquecimento ôhmico, incluindo efeitos do campo elétrico sobre transporte de massa, estudos sobre eficiência energética do processo, modelagem matemática, aprimoramento de medidas não intrusivas de T e materiais de eletrodos que minimizem a eletrólise.

3.3.4 Efeitos não térmicos

Além das vantagens já discutidas, possíveis benefícios do aquecimento por campos elétricos seriam os chamados efeitos específicos, adicionais ou não térmicos sobre moléculas ou micro-organismos. Este debate se prolonga há décadas (FLEMING, 1944; SHAMIS et al., 2012; SAMARANAYAKE; SASTRY, 2016a, 2016b; XU et al., 2016; KUBO et al., 2020). Enquanto alguns autores negam enfaticamente a existência de tais efeitos (GIESE, 1992; PALANIAPPAN; SASTRY; RICHTER, 1992; CORONEL; SIMUNOVIC; SANDEEP, 2003; FELLOWS, 2009; KAPPE, 2013; KIM; KANG, 2015; TANG, 2015; XU et al., 2016), outros afirmam que a diferença observada experimentalmente entre tratamentos térmicos não pode ser atribuída somente a um aquecimento mais rápido e em volume (TAJCHAKAVIT; RAMASWAMY, 1995, 1997; TAJCHAKAVIT; RAMASWAMY; FUSTIER, 1998; MATSUI et al., 2008; SOMAVAT et al., 2012; BENLLOCH-TINOCO; MARTÍNEZ-NAVARRETE; RODRIGO, 2014; RODRIGUES et al., 2017). Somavat, Mohamed e Sastry (2013) inclusive questionam a classificação do aquecimento ôhmico como tecnologia de processamento térmico, mas Rawson et al. (2011) e Jaeger et al. (2016) afirmam que a ação da temperatura é o principal efeito nos aquecimentos por micro-ondas e ôhmico, respectivamente. Peleg, Corradini e Normand (2012) lembram que diferenças entre métodos de inativação não devem depender do modelo matemático escolhido.

Evidências de tais efeitos não térmicos das micro-ondas teriam surgido devido ao uso de cavidades multimodais de baixa reprodutibilidade e da medição inadequada da temperatura das amostras durante os primeiros experimentos (REGIER; SCHUBERT, 2001; KAPPE, 2013; TANG, 2015). Cabe ressaltar que os níveis de energia presentes em micro-ondas são ordens de grandeza menores que os necessários para diretamente romper ligações químicas covalentes ou induzir mudanças estruturais em proteínas (POTTER, HOTCHKISS, 1995; REGIER; SCHUBERT, 2001; SAKAI; MAO, 2006; DAMM et al., 2012; TANG, 2015).

Outra questão que compromete resultados é a comparação inadequada entre tratamentos contínuos e descontínuos ou com históricos $T(t)$ sem qualquer semelhança (VIKRAM; RAMESH; PRAPULLA, 2005; KIM; KANG, 2015; MARSZALEK; MITEK; SKAŃSKA, 2015; ARJMANDI et al., 2016; MAKROO et al., 2017; STRATAKOS et al., 2016). Jacob, Chia e Boey (1995), Kozempel et al. (2000) e Shazman et al. (2007) destacam a importância de comparar tratamentos térmicos sob condições semelhantes. Benlloch-Tinoco et al. (2014a) afirmam que os diferentes mecanismos de aquecimento tornam difícil assemelhar históricos $T(t)$ para processos convencionais e alternativos, e chegam até a sugerir que o uso da letalidade integrada da eq.(3.7) eliminaria qualquer diferença devido a históricos $T(t)$ distintos (uma abordagem bastante distinta da deste trabalho).

Há ainda a possibilidade de que os efeitos específicos ou não térmicos dos campos elétricos não atuem da mesma forma em todos os meios ou moléculas: Benlloch-Tinoco et al. (2014b) pasteurizaram purê de kiwi por micro-ondas e relataram efeitos não térmicos sobre a inativação da PPO e da PE mas não da POD. Castro et al. (2004) observaram efeitos não térmicos do aquecimento ôhmico na inativação de PPO e lipoxigenase mas não na de PE, fosfatase alcalina e β -galactosidase.

Diversos mecanismos foram propostos para explicar os possíveis efeitos não térmicos ou específicos de campos elétricos oscilantes durante o aquecimento ôhmico ou por micro-ondas sobre a inativação de micro-organismos e enzimas. A destruição da membrana celular pela movimentação de íons (ESTADOS UNIDOS DA AMÉRICA, 2020) é um mecanismo proposto frequentemente, mas Rougier et al. (2014) não observaram rompimento da membrana em suspensões de *Escherichia coli* aquecidas

a 37 °C por micro-ondas a 2450 MHz. Os autores propõem que ocorreu eletroporação reversível, dependente da potência do campo elétrico – um mecanismo que também é invocado ao discutir efeitos não térmicos do aquecimento ôhmico (KAUR; SINGH, 2016; RODRIGUES et al., 2017). Sastry (2005), no entanto, argumenta que o mecanismo de eletroporação da membrana valeria apenas para as baixas frequências do aquecimento ôhmico e não para as altas frequências usadas em micro-ondas. Esse mecanismo para efeitos não térmicos também não pode ser estendido à inativação de esporos devido às diferenças estruturais (SOMAVAT et al., 2012; SOMAVAT; MOHAMED; SASTRY, 2013).

Kappe, Pieber e Dallinger (2013) sugerem que uma orientação molecular mais favorável devido à polarização poderia aumentar a taxa de colisões efetivas em reações químicas. A presença de um campo elétrico poderia estabilizar intermediários polares em uma reação química de síntese orgânica, de desnaturação proteica ou catalisada por uma enzima (HOZ; DÍAZ-ORTÍZ; MORENO, 2007; DÍAZ-ORTÍZ et al., 2011). Kozempel et al. (2000) e Chandrasekaran, Ramanathan e Basak (2013) sugerem que as micro-ondas podem acentuar efeitos térmicos. Castro et al. (2004) rejeitam a hipótese de quebra molecular ou separação de subunidades de enzimas durante o aquecimento ôhmico. Lopes et al. (2015) relatam que o aquecimento convencional a 45 °C alterou a estrutura secundária da POD, descomprimindo-a e aumentando sua atividade mas a 60 °C, a enzima perdeu sua estrutura terciária e foi inativada; tal perda da estrutura terciária foi observada para o aquecimento por micro-ondas a 45 °C.

Devido à inconclusão sobre a (in)existência de efeitos não térmicos ou específicos dos campos elétricos oscilantes sobre alimentos, há quem recomende simplesmente ignorar tal discussão e projetar processos considerando apenas o efeito térmico, tomando esses possíveis efeitos como segurança adicional (ANANTHESWARAN; RAMASWAMY, 2001; ESTADOS UNIDOS DA AMÉRICA, 2020). No entanto, há argumentos de ordem pragmática contra tal atitude. Deve-se verificar se tais efeitos, se existem, influenciam da mesma maneira micro-organismos patogênicos e indicadores de tratamento comumente utilizados, a fim de selecionar um alvo adequado e garantir a segurança do processo (CASTRO et al., 2004). Ignorar tais efeitos ainda levará a um sobreprocessamento do alimento ao desconsiderar essa

eventual inativação adicional. Por fim, poucos trabalhos consideram a hipótese de efeitos não térmicos sobre a qualidade dos alimentos (LUVIELMO et al., 2004).

Em uma revisão extensa, Kubo et al. (2020) concluem que “incertezas na medição de temperatura e na avaliação da atividade de micro-organismos e enzimas pode esconder sutis efeitos não térmicos”, que “parecem mais pronunciados em aquecimento ôhmico a baixas frequências que em aquecimento por micro-ondas” em frequências mais elevadas (p.9, tradução nossa).

Apesar das barreiras, o aquecimento por micro-ondas é considerado uma das mais promissoras e comercialmente viáveis tecnologias emergentes para processamento de alimentos, especialmente na América do Norte e na Espanha, enquanto o aquecimento ôhmico desperta interesse no processamento de alimentos líquidos na Europa (JERMANN et al., 2015). Além das já citadas desvantagens de aquecimento por micro-ondas potencialmente heterogêneo e possível incrustação sobre eletrodos no aquecimento ôhmico, Regier e Schubert (2001) e Jermann et al. (2015) relatam razões não técnicas para a difusão lenta de tais tecnologias. Tais razões incluem um suposto conservadorismo e baixo orçamento de pesquisa em indústrias alimentícias, hesitação em investir em profissionais qualificados que compreendam o complexo fenômeno de aquecimento por campos elétricos e a falta de regulamentações adequadas. No entanto, além das já citadas vantagens de aquecimento rápido e volumétrico, essas tecnologias apresentam eficiência energética maior, levando a um menor consumo de energia e ocupação de menor espaço na planta (ATUONWU et al., 2019). Vicente et al. (2012) destacam a necessidade de mais estudos sobre procedimentos de validação de processamentos e sobre inativação de enzimas em alimentos por aquecimento ôhmico. Os autores afirmam que “ao contrário das tecnologias de processamento bem estabelecidas, ainda há muito espaço para aprimoramentos ao usar o aquecimento ôhmico” (p. 677, tradução nossa). Segundo Regier e Schubert (2001), “o avanço da tecnologia de micro-ondas na indústria de alimentos devido ao seu elevado potencial foi previsto muitas vezes, mas sempre foi adiado até agora. (...) Contudo, nós acreditamos que o potencial da tecnologia de micro-ondas na indústria de alimentos está longe de ser exaurido” (p.203, tradução nossa).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA ÁGUA DE COCO

Foram adquiridos dois lotes de cocos verdes (20 cocos por lote) da variedade anã, de oito meses de maturação, sem sinal de rachaduras na casca e armazenados a 5 °C. Um lote foi usado no estudo da cinética de inativação da PPO, e outro no estudo da POD. Após sanitização do exterior dos frutos com solução de hipoclorito de sódio, a água de coco foi extraída por gravidade, usando a extratora Coco Fácil (Brasil Iluminação, Brasil) da Figura 4.1. Para cada lote, o líquido extraído dos frutos foi homogeneizado e filtrado em malha $0,212 \pm 0,009$ mm Granutest (Telastem, Brasil). A água de coco foi acondicionada em garrafas de volume 270 ± 20 mL armazenadas a -28 ± 2 °C. Para as análises de propriedades e ensaios de cinética de inativação, a água de coco era descongelada submetendo as garrafas a leve agitação sob água corrente à temperatura ambiente e mantendo-as em banho de água a no máximo 4 °C.

Figura 4.1: Extratora de água de coco por gravidade utilizada para perfuração dos cocos



Fonte: Coco Fácil (2020)

Segundo os métodos descritos pelo Instituto Adolfo Lutz (2008), as seguintes propriedades foram determinadas a 25 ± 2 °C e em triplicata:

- pH usando peagômetro Tec-3MP (TECNAL, Brasil);
- acidez titulável expressa como % de ácido málico e cítrico, determinada por titulação volumétrica com solução 0,1 M de NaOH com fenolftaleína como indicador;
- sólidos solúveis totais expressos como °Brix corrigidos pela temperatura e acidez, medidos em refratômetro 950.032 B-ATC (Alla France, França);
- peso específico usando densímetro Incoterm 7583 (Incoterm, Brasil).

A permissividade elétrica relativa ϵ' e o fator de perda ϵ'' foram determinados entre 0,5 GHz e 3,0 GHz conforme Franco et al. (2015), por meio da técnica de sonda coaxial usando o Dielectric Probe Kit 85070E acoplado a um analisador de rede E5061B (Agilent Technologies, Malásia), nas temperaturas de 16 °C (lote de estudo da POD) e 24 °C (lote de estudo da PPO). A condutividade elétrica da água de coco a 25 ± 1 °C foi medida em triplicata em condutivímetro YSI-3200 com eletrodo YSI-3252 (YSI, Estados Unidos da América). A turbidez a 25 ± 1 °C foi determinada por espectrometria a 610 nm relativa à água destilada, usando o espectrofotômetro SpectraMax Plus 384 (Molecular Devices, Estados Unidos da América) e microplacas de 96 poços e fundo chato (Greiner Bio-One, Áustria) (Figura 4.2). A leitura da absorbância Abs foi usada para calcular o valor da turbidez $Turb$ conforme a eq.(4.1) (CAMPOS et al., 1996; TAN et al., 2014).

$$Turb = 100(1 - 10^{-Abs}) \quad (4.1)$$

Figura 4.2: Espectrofotômetro e microplaca utilizados nas leituras de turbidez e de atividade enzimática de amostras de água de coco



Fonte: o próprio autor (2016)

4.2 OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO SUCO DE LARANJA

Foi adquirido um lote de 30 laranjas da variedade Navel sem sinal de avarias (Figura 4.3) e armazenadas a 5 °C para estudo da cinética de inativação da PE. Após sanitização do exterior dos frutos com solução de hipoclorito de sódio e obtenção do suco com extrator doméstico Compact (Breville, Estados Unidos da América) (Figura 4.4), o suco extraído dos frutos foi homogeneizado, filtrado em malha $0,18 \pm 0,01$ mm e acondicionado em bolsas plásticas de 400 ± 50 mL armazenadas a -18 ± 2 °C. Para as análises de propriedades e ensaios de cinética de inativação, o suco era descongelado submetendo as bolsas a leve agitação sob água corrente à temperatura ambiente e mantendo-as em banho de água a no máximo 4 °C.

Figura 4.3: Lote de laranjas (variedade Navel) utilizado no estudo da cinética de inativação da PE por aquecimento convencional e ôhmico, após sanitização



Fonte: o próprio autor (2019)

Figura 4.4: Extrator doméstico de suco utilizado para obter e filtrar suco de laranja



Fonte: Breville (2020)

Segundo os métodos descritos pelo Instituto Adolfo Lutz (2008), as seguintes propriedades foram determinadas a 25 ± 2 °C e em triplicata:

- pH usando peagâmetro Accumet 15 (Fisher Scientific, Estados Unidos da América);
- acidez titulável expressa como % de ácido málico e cítrico, determinada por titulação volumétrica com solução 0,1 M de NaOH com fenolftaleína como indicador;
- sólidos solúveis totais expressos como °Brix corrigidos pela temperatura e acidez, medidos em refratômetro COMINHKPR121676 (iTavah, Estados Unidos da América);
- peso específico usando densímetro 52110-1012 (Kimble Chase, Estados Unidos da América).

A condutividade elétrica do suco de laranja a 25 ± 1 °C foi medida em triplicata em condutivímetro EC20 (Apera Instruments, Alemanha). A turbidez a 25 ± 1 °C foi determinada por espectrometria em cubeta a 610 nm relativa à água destilada, usando o espectrofotômetro 20 Genesys (Spectronic Instruments, Reino Unido) conforme a eq.(4.1).

4.3 PASTEURIZAÇÃO POR MICRO-ONDAS

O equipamento de bancada utilizado para o aquecimento por micro-ondas focalizadas foi um mini reator de síntese química Discover Reflux (CEM Corporation, Estados Unidos da América), exposto nas Figuras 4.5 e 4.6. Este reator possui magnetron de potência máxima 300 W resfriado a ar e na frequência de 2450 MHz. As guias de onda conduzem a radiação a uma cavidade monomodal cilíndrica com diâmetro de 7 cm. Fendas entre a guia de ondas toroidal e a cavidade focalizam a radiação em um eixo vertical central, onde é colocado o tubo de ensaio com a amostra. O equipamento conta com proteção contra vazamento de ondas e com agitador magnético. O histórico de tempo-temperatura foi medido com o medidor de temperatura por fibra óptica Luxtron 812 (LumaSense Technologies, Estados Unidos da América), que registra diretamente a temperatura em tempo real a cada 0,5 s, inserido no interior da amostra de água de coco. O uso de termopares convencionais não é recomendado devido à interação entre o campo eletromagnético e os componentes metálicos do termopar, e

o sensor de infravermelho embutido no equipamento não mede diretamente a temperatura do produto (KAPPE, 2013).

Figura 4.5: Ilustração e esquema do mini reator Discover Reflux da CEM Corporation, indicando a focalização de micro-ondas na cavidade de reação



Fonte: adaptado de CEM Corporation (2012)

Figura 4.6: Mini reator Discover da CEM Corporation na bancada do laboratório, acompanhado de sensor de temperatura por fibra óptica e computador com *software* para controle do equipamento

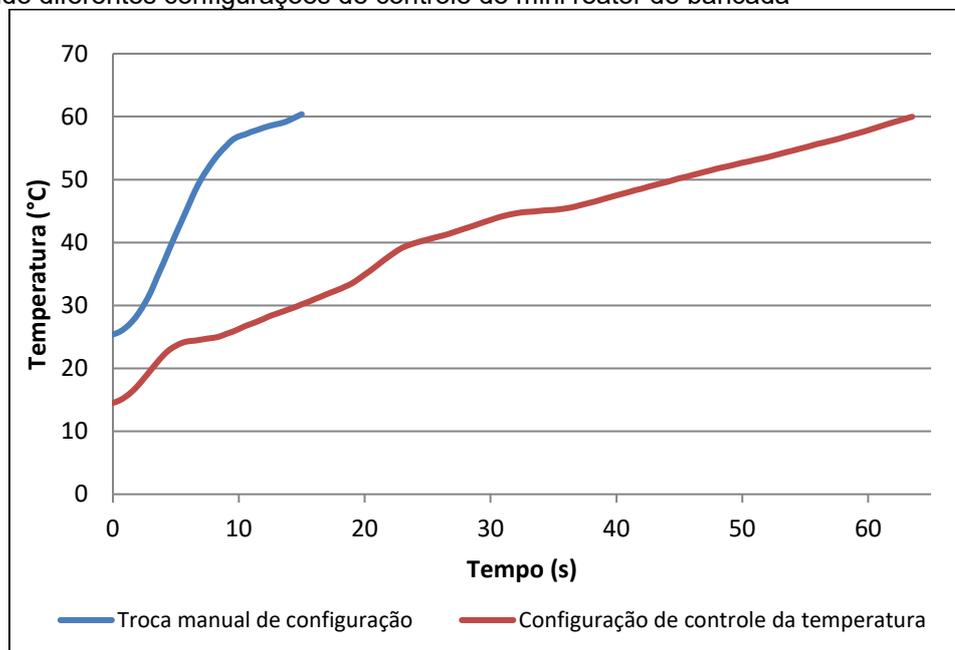


Fonte: Laboratório de Engenharia de Alimentos (2020)

Durante ensaios preliminares com o equipamento, observou-se que o mini reator não controlava a temperatura e a potência de forma simultânea, como desejado para esta aplicação: a potência incidente era mantida em níveis baixos, o que levava a um aquecimento demasiadamente lento da amostra. Foi adotado um procedimento de iniciar o experimento com uma configuração de potência fixa em níveis mais altos, sem controle da temperatura. A temperatura da amostra era monitorada pelo sensor de fibra óptica calibrado, e quando esta se aproximava da temperatura de processo pretendida a configuração era abortada e então trocada para a de controle de temperatura, a fim de obter a temperatura desejada. A Figura 4.7 apresenta um

exemplo de como este procedimento de troca manual de configuração permitiu obter rampas de aquecimento mais rápidas.

Figura 4.7: Comparação de taxas de aquecimento por micro-ondas de amostras de 5 mL de água de coco usando diferentes configurações de controle de mini reator de bancada



Fonte: o próprio autor (2016)

Segundo Rosa e Abreu (2000), temperaturas entre 75 °C e 90 °C são usadas na pasteurização de água de coco. Lopes et al. (2015) descrevem que a inativação da POD pelo aquecimento convencional ocorre acima de 60 °C, e Lewis e Heppel (2000) recomendam o uso de T_r entre 60 °C e 85 °C para processos de pasteurização. Dessa forma, foram escolhidas as temperaturas de processo de 60 °C, 70 °C, 80 °C e 90 °C para a determinação da cinética de inativação. A partir de ensaios preliminares foram determinadas as condições experimentais da Tabela 4.1. Amostras de $5,0 \pm 0,1$ mL foram pipetadas para tubos de ensaio. Um tubo de ensaio era posicionado no centro da cavidade de aplicação do mini reator, e a amostra era submetida a tratamento térmico em pressão atmosférica. A agitação magnética e o pequeno volume possibilitam adotar a hipótese de temperatura uniforme na amostra. Durante a etapa de retenção à temperatura de processo, potências incidentes entre 3 W e 6 W eram suficientes para manter a temperatura da amostra aproximadamente constante. As amostras tratadas foram refrigeradas em banho de água com gelo sob agitação e então congeladas a -28 ± 2 °C até a leitura da atividade enzimática.

Tabela 4.1: Condições de tempo, temperatura e potência inicial dos ensaios descontínuos para ajuste dos modelos de inativação enzimática por micro-ondas focalizadas em água de coco

Temperatura de processo (°C)	Potência incidente inicial (W)	Tempos nominais de retenção para inativação da PPO (s)	Tempos nominais de retenção para inativação da POD (s)
60	100	{5, 10, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180}	{1, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210}
70	120	{5, 10, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 120, 150}	{1, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210}
80	160	{5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 75, 90}	{1, 20, 40, 60, 80, 100, 120, 140}
90	200	{1, 5, 10, 15, 20}	{1, 10, 20, 30, 40, 50}

Fonte: o próprio autor (2020)

4.4 PASTEURIZAÇÃO ÔHMICA

Os ensaios de inativação enzimática por aquecimento ôhmico foram realizados em uma célula de aquecimento de polipropileno customizada (1,1 cm de diâmetro e 10 mL de volume máximo), com dois eletrodos de titânio platinizados (de tamanho 5 in por 0,2 in) e medição de temperatura por termopar SCPSS-020U-6 (Omega Engineering, Estados Unidos da América) eletricamente isolado de diâmetro 0,020 in. O uso de termopares convencionais expostos não é recomendado devido à interação entre o campo eletromagnético e os componentes metálicos do termopar (KAPPE, 2013). Um eixo plástico mantinha a amostra sob agitação. A temperatura era controlada pela aplicação de campo elétrico constante entre 33 V/cm e 36 V/cm (60 Hz, onda senoidal) e pela imersão da célula em banho de água com gelo sob agitação a 1 °C a fim de obter uma etapa de retenção a T constante e assim poder comparar históricos $T(t)$ entre aquecimento ôhmico e convencional. Diluição da amostra e aplicação de campo elétrico variável ou de menor intensidade foram opções consideradas e descartadas para realizar esse controle de temperatura. Foram mantidas as temperaturas de processo de 60 °C, 70 °C, 80 °C e 90 °C para a determinação da cinética de inativação. A partir de ensaios preliminares foram determinadas as condições experimentais da Tabela 4.2. Amostras de $5,0 \pm 0,5$ mL foram pipetadas para a célula e submetidas a tratamento térmico em pressão atmosférica. Um esquema da célula customizada é apresentado na Figura 4.8, na configuração de aquecimento convencional (imersão em água quente, sem eletrodos) e na de ôhmico (imersão em água fria, com eletrodos). A agitação mecânica e o

pequeno volume possibilitam adotar a hipótese de temperatura uniforme na amostra. As amostras tratadas foram refrigeradas desligando-se a corrente elétrica, e então congeladas a $-18 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ até a leitura da atividade enzimática.

Figura 4.8: Esquema da célula de aquecimento ôhmico customizada na configuração de aquecimento convencional (a) e ôhmico (b) de amostras de suco de laranja

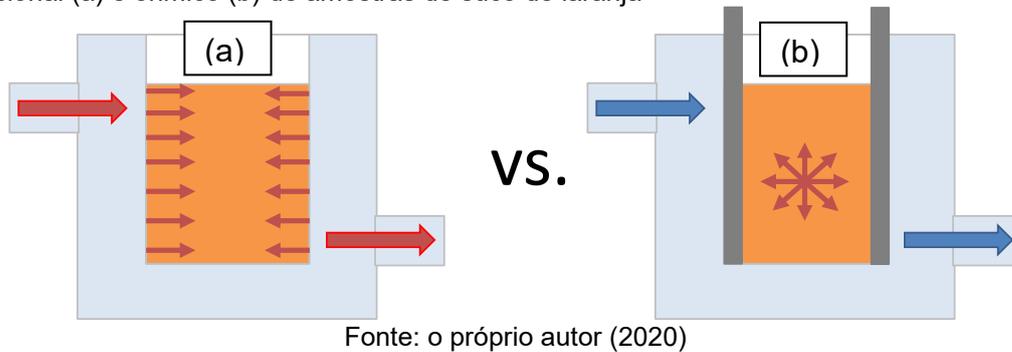


Tabela 4.2: Condições de tempo e temperatura dos ensaios descontínuos para ajuste dos modelos de inativação enzimática por aquecimento ôhmico em suco de laranja

Temperatura de processo ($^\circ\text{C}$)	Campo elétrico (V/cm)	Tempos nominais de retenção para inativação da PE (s)
60	33	{0, 10, 30, 30, 50, 100, 150, 200}
70	34	{0, 5, 20, 50, 100, 150, 200}
80	35	{0, 5, 10, 30, 50, 100}
90	36	{0, 1, 2, 5}

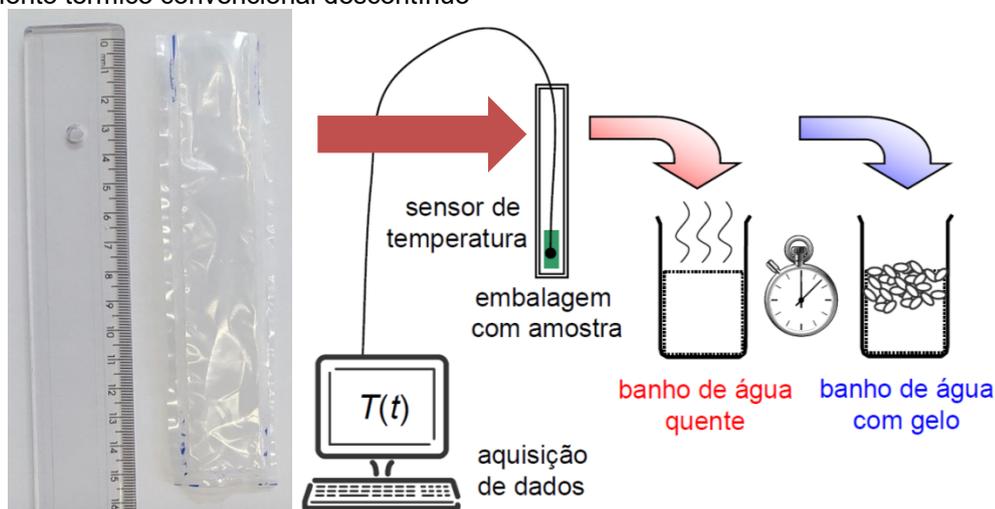
Fonte: o próprio autor (2020)

4.5 PASTEURIZAÇÃO CONVENCIONAL

O aquecimento ôhmico e por micro-ondas foi comparado com resultados de ensaios de aquecimento convencional representados na Figura 4.9. Amostras de $3,0 \pm 0,1 \text{ mL}$ de água de coco ou suco de laranja foram pipetadas para recipientes flexíveis de polietileno de baixa densidade de $0,06 \text{ mm}$ de espessura, conforme Aguiar, Yamashita e Gut (2012). As amostras foram então submersas em banho térmico com agitação e controle de temperatura para tratamento térmico em pressão atmosférica. As amostras tratadas foram refrigeradas em banho de água com gelo sob agitação e então congeladas até a leitura da atividade enzimática. O lote de produto usado no tratamento convencional foi o mesmo usado no tratamento por micro-ondas ou por aquecimento ôhmico. O pequeno volume de amostra e a agitação permitiram adotar

a hipótese de temperatura uniforme. As condições de tempo e temperatura para o tratamento convencional foram iguais às das Tabelas 4.1 e 4.2.

Figura 4.9: Recipiente de polietileno usado no tratamento por imersão em banho térmico e esquema do tratamento térmico convencional descontínuo



Fonte: adaptado de Gut (2012)

4.6 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA

A atividade da PPO foi determinada segundo o método espectrofotométrico descrito por Ponting e Joslyn⁴ (1948 apud CAMPOS et al., 1996). Utilizou-se como substrato uma solução recém preparada 0,2 M de catecol Pyrocatechol C9510-500G (Sigma-Aldrich, Estados Unidos da América) em solução tampão fosfato 0,2 M pH 6,0 a 25 °C. A absorbância da amostra foi lida no comprimento de onda 425 nm a cada 20 s durante 30 min, usando o espectrofotômetro e a microplaca apresentados na Figura 4.1. Em cada poço de 200 µL da microplaca, eram adicionados 138 µL da solução tampão e 25 µL da água de coco; após 1 min para estabilização da temperatura em 25 ± 1 °C, 37 µL da solução de catecol eram adicionados. O valor de referência, ou “branco”, para a leitura da absorbância, foi determinado pela leitura da absorbância de 163 µL de solução tampão e 37 µL de solução de catecol. Este valor “branco” era subtraído de todas as demais leituras do espectrofotômetro.

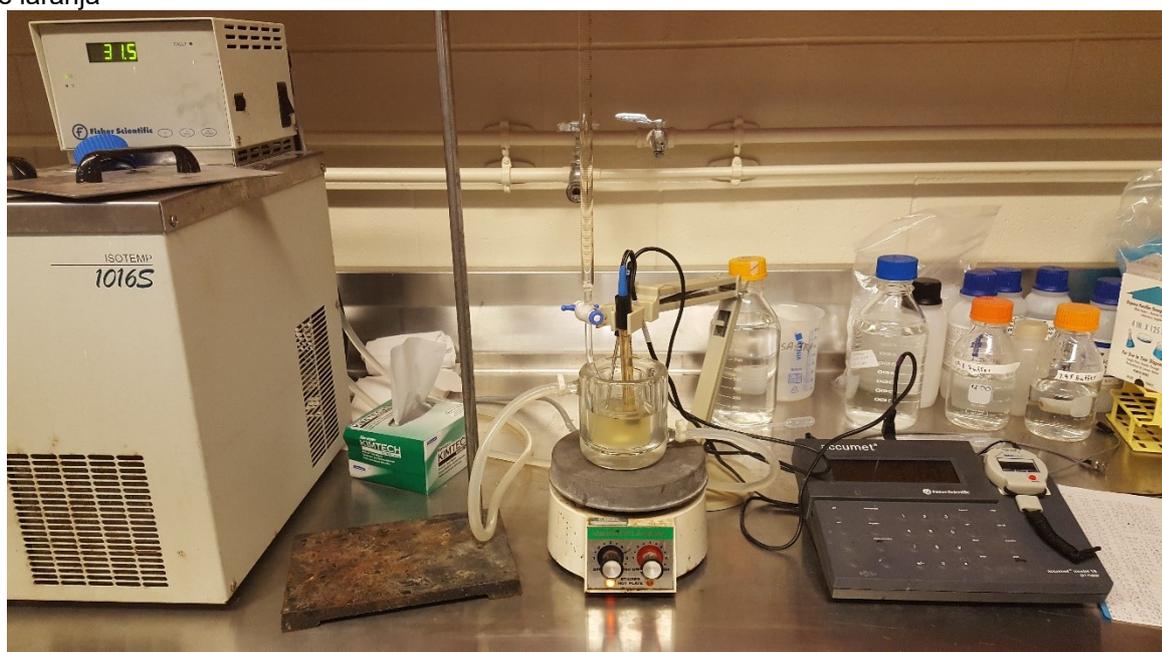
A atividade da POD foi determinada segundo o método espectrofotométrico descrito por Kwak et al. (1995). Utilizou-se como substrato uma solução recém preparada de pirogalol Pyrogallol P0381-25G (Sigma-Aldrich, Estados Unidos da América) em água

⁴ PONTING, J. D.; JOSLYN, M. A. Ascorbic acid oxidation and browning in apple tissue extracts. *Archives of Biochemistry*, New York, v. 19, p. 47-63, 1948.

destilada (concentração 5 %). A absorbância da amostra foi lida no comprimento de onda 420 nm a cada 12 s durante 10 min usando o espectrofotômetro e a microplaca apresentados na Figura 4.1. Em cada poço de 200 μL da microplaca, eram adicionados 67 μL de solução tampão fosfato/ácido cítrico pH 6,0, 90 μL da água de coco e 21 μL de substrato; após 1 min para estabilização da temperatura em 25 ± 1 $^{\circ}\text{C}$, 22 μL de solução de H_2O_2 73,5 mM eram adicionados. O valor de referência, ou “branco”, para a leitura da absorbância, foi determinado pela leitura da absorbância de 157 μL de solução tampão, 21 μL de substrato e 22 μL de solução de H_2O_2 . Este valor “branco” era subtraído de todas as demais leituras do espectrofotômetro.

A atividade da PE foi determinada por titulação manual de NaOH 0,05 M segundo Rouse e Atkins (1952, 1953) a $30,0 \pm 0,5$ $^{\circ}\text{C}$ e pH $7,5 \pm 0,1$, no aparato da Figura 4.10. Utilizou-se como substrato 50 mL de uma solução recém preparada de pectina de casca de frutas cítricas P9135-100G (Sigma-Aldrich, Estados Unidos da América) (concentração 0,5%) com 0,2 M NaCl em água destilada, ao qual era adicionado 1,000 mL de suco de laranja sob agitação. Cada leitura era realizada por pelo menos 20 min. O valor de referência, ou “branco”, para a leitura do volume titulado, foi determinado pela leitura do volume de NaOH titulado usando como amostra 1,000 mL de suco de laranja fervido por 5 min. Este valor “branco” era subtraído de todas os demais volumes de NaOH medidos.

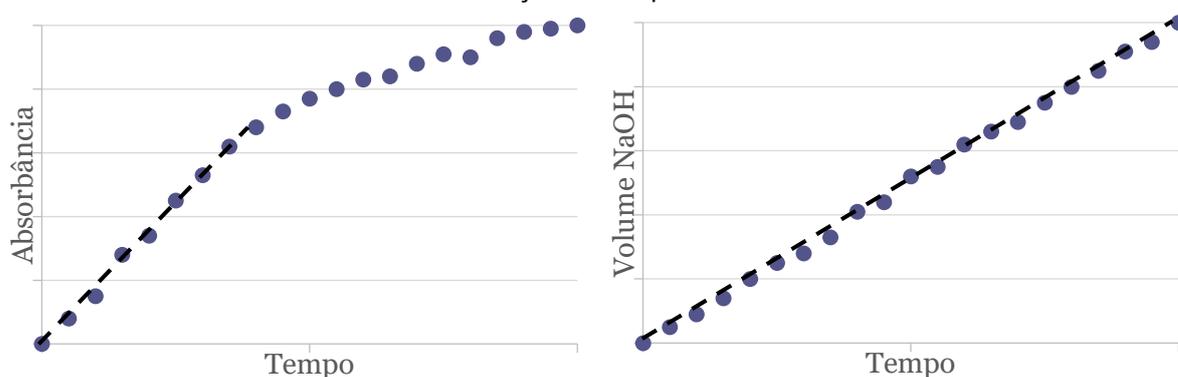
Figura 4.10: Aparato experimental de titulação manual para determinação da atividade da PE em suco de laranja



Fonte: o próprio autor (2019)

A leitura para cada amostra foi feita em triplicata. Obtendo via regressão linear o coeficiente angular do primeiro trecho linear da curva da absorbância (para ensaios da PPO e POD) ou do volume de NaOH titulado (para ensaios da PE) em função do tempo, tem-se uma medida indireta da taxa de formação de produto, portanto da atividade enzimática (conforme Figura 4.11). A atividade residual A/A_0 foi determinada tomando a média de três leituras de atividade para as amostras tratadas sobre a média de três leituras de atividade de amostras que não sofreram tratamento térmico. O desvio da atividade residual σ_{A/A_0} foi calculado conforme a eq.(4.2), na qual σ_A é o desvio padrão das três leituras de atividade das amostras pasteurizadas e σ_{A_0} é o desvio padrão das três leituras de atividade das amostras não pasteurizadas.

Figura 4.11: Representação de determinação da taxa de reação a partir de trechos lineares das curvas de absorbância ou de volume titulado em função do tempo



Fonte: o próprio autor (2020)

$$\left(\frac{\sigma_{A/A_0}}{A/A_0}\right)^2 = \left(\frac{\sigma_A}{A}\right)^2 + \left(\frac{\sigma_{A_0}}{A_0}\right)^2 \quad (4.2)$$

4.7 AJUSTE E VALIDAÇÃO DOS MODELOS

4.7.1 Ajuste dos modelos

A partir dos dados experimentais de $T(t)$ e A/A_0 , os parâmetros dos modelos cinéticos de inativação foram ajustados. Foram avaliados o modelo de primeira ordem da eq.(3.8), o modelo fracional da eq.(3.9), o modelo de duas frações da eq.(3.10) e o modelo de Weibull da eq.(3.13). Os parâmetros foram ajustados iterativamente buscando a minimização da soma dos erros quadráticos SEQ da eq.(4.3).

$$SEQ = \sum_{i=1}^n \left(A/A_{0_{exp_i}} - A/A_{0_{calc_i}} \right)^2 \quad (4.3)$$

Dessa forma, foi formulado um problema de otimização não linear tendo a eq.(4.3) como função objetivo e os parâmetros como graus de liberdade, no qual, a partir de uma estimativa inicial, um algoritmo busca os valores dos parâmetros que minimizem esse erro. Conforme recomendações de Polakovič e Vrabel (1996) e Van Loey et al. (2003), diversas estimativas iniciais foram usadas para verificar a convergência do algoritmo, e a regressão em um único passo global incorpora o modelo secundário no ajuste e reduz erros. Para usar o erro quadrático da eq.(4.3) como critério no ajuste, é necessário assumir que o erro experimental aleatório é independente das medidas e apresenta distribuição normal com média nula e variância constante.

Para o modelo de Weibull, a eq.(3.15) foi usada para calcular a inativação instantânea \hat{s}_i a cada temperatura T_i (ou instante t_i) para cada histórico experimental $T(t)$, resultando na eq.(4.4). Assim, a atividade residual a cada instante foi calculada com base na atividade residual anterior a cada passo no tempo $\Delta t = 0,5$ s (água de coco) ou 1 s (suco de laranja), conforme eq.(4.5), para então obter $A/A_{0_{exp}}$ ao final do cálculo (instante $i = t/\Delta t$, final do histórico $T(t)$). $\log(A/A_0)_0$ foi definido como -10^{-4} a fim de garantir a estabilidade do cálculo numérico iterativo; valores entre -10^{-2} e -10^{-5} não influenciaram as estimativas dos parâmetros (PELEG; PENCHINA, 2000; CAMPANELLA; PELEG, 2001). Para os demais modelos, a integração numérica de F_{T_r} da eq.(3.7) se deu pelo método dos trapézios.

$$\hat{s}_i = -\frac{\beta}{D'_{T_i}} \left(-\log(A/A_0)_{i-1} \right)^{\frac{\beta-1}{\beta}} \quad (4.4)$$

$$\log(A/A_0)_i = \log(A/A_0)_{i-1} + \hat{s}_i \Delta t \quad (4.5)$$

A adequação do ajuste dos modelos aos dados experimentais foi averiguada pela avaliação dos resíduos, verificando a hipótese de distribuição normal e tendências. Diagramas de paridade foram construídos, comparando visualmente as previsões teóricas do modelo e os valores determinados experimentalmente para A/A_0 . O coeficiente de determinação R^2 da eq.(4.6) foi comparado ao coeficiente de determinação ajustado R^2_{aj} da eq.(4.7). Nas eqs.(4.6) e (4.7), $\overline{A/A_{0_{exp}}}$ é a média dos

valores experimentais de A/A_0 . O coeficiente ajustado é sempre menor que ou igual a R^2 por penalizar um modelo complexo com grande número de parâmetros, pois divide as somas dos quadrados das diferenças pelos respectivos graus de liberdade (BATES; WATTS, 1988; BOX; HUNTER, J.; HUNTER, W., 2005).

$$R^2 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^n (A/A_{0_{exp_i}} - A/A_{0_{calc_i}})^2}{\sum_{i=1}^n (A/A_{0_{exp_i}} - \overline{A/A_{0_{exp}}})^2} \quad (4.6)$$

$$R_{aj}^2 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^n (A/A_{0_{exp_i}} - A/A_{0_{calc_i}})^2 / (n - p)}{\sum_{i=1}^n (A/A_{0_{exp_i}} - \overline{A/A_{0_{exp}}})^2 / (n - 1)} \quad (4.7)$$

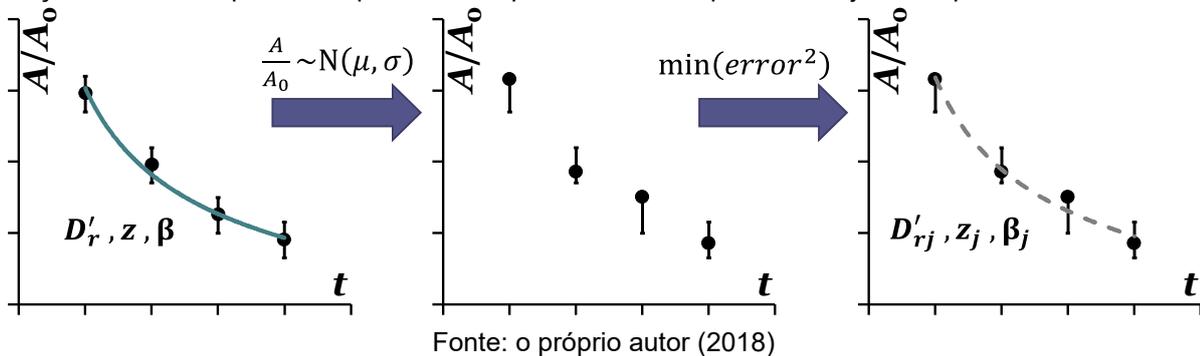
O ajuste, a avaliação e a comparação dos modelos foram realizados por código escrito no *software* MATLAB R2013a (MathWorks, Estados Unidos da América). Os diferentes modelos cinéticos ajustados foram comparados pelos critérios de comparação das eqs.(3.19) a (3.22). Os valores de p , SEQ e $R^2 - R_{aj}^2$ também foram usados na comparação e seleção dos modelos.

4.7.2 Estimativa da incerteza

O código implementado no MATLAB também estima o desvio-padrão dos parâmetros ajustados dos modelos pelos métodos de Monte Carlo de *bootstrap* suavizado (descrito a seguir) e *jackknife* (eq.(3.29)), e também pela matriz de covariância dos parâmetros (eq.(3.26)).

O *bootstrap* suavizado considera que cada atividade residual experimental A/A_0 é uma variável aleatória de distribuição normal. A média dessa distribuição é igual à média das três leituras de A dividida pela média das três leituras de A_0 . O desvio-padrão por sua vez é calculado a partir da eq.(4.2). Cada valor experimental médio de A/A_0 era substituído por um valor tomado aleatoriamente dessa distribuição. Com os novos valores de A/A_0 , os parâmetros do modelo eram novamente ajustados conforme descrito na seção 4.5.2. O procedimento foi repetido 50000 vezes para se obter uma estimativa da distribuição dos parâmetros. O processo de tomar os dados experimentais, gerar uma nova amostra pseudo-experimental e ajustar novas estimativas dos parâmetros está visualmente descrito na Figura 4.12.

Figura 4.12: Representação do método de Monte Carlo por reamostragem de *bootstrap* suavizado: criação de amostra pseudo-experimental a partir dos dados para novo ajuste de parâmetros



4.7.3 Validação do modelo de inativação da PPO

Novos ensaios experimentais de inativação da PPO por micro-ondas focalizadas foram realizados a fim de validar os modelos cinéticos ajustados, avaliando a previsão de dados não usados no ajuste. As condições de tempo e temperatura utilizadas para os aquecimentos convencional e por micro-ondas são apresentadas na Tabela 4.3. Para averiguar a previsão do modelo considerando a letalidade integrada de todo o tratamento, foram usadas taxas de aquecimento e resfriamento menores que as do ajuste dos modelos. Não houve validação da inativação da POD devido a nenhum dos modelos estudados ter descrito os dados adequadamente (conforme seção 5.2.3).

Tabela 4.3: Condições de tempo, temperatura e potência incidente de micro-ondas máxima dos ensaios descontínuos para validação dos modelos de inativação da PPO por micro-ondas

Temperatura de processo (°C)	Potência incidente máxima no aq. por micro-ondas (W)	Tempos nominais de retenção para inativação da PPO (s)
65	46	{1, 20, 50, 65, 100, 160}
75	60	{1, 10, 20, 30, 50, 80}
85	88	{1, 5, 10, 20, 30, 50}

Fonte: o próprio autor (2020)

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO DA ÁGUA DE COCO E DO SUCO DE LARANJA

A Tabela 5.1 apresenta os valores experimentais médios das propriedades de água de coco verde e de suco de laranja, que estão em concordância com os relatados na literatura (SINCLAIR; BARTHOLOMEW; RAMSEY, 1945; CAMPOS et al., 1996; CAMPBELL-FALCK et al., 2000; ARAGÃO; ISBERNER; CRUZ, 2001; ABREU; FARIA, 2007; ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS, 2007; MATSUI et al., 2008; FONTAN et al., 2009; MURASAKI-ALIBERTI et al., 2009; STINCO et al., 2012; OULÉ; DICKMAN; ARUL, 2013; FRANCO; TADINI; GUT, 2017).

Tabela 5.1: Valores experimentais das propriedades de água de coco verde e suco de laranja a 25 °C

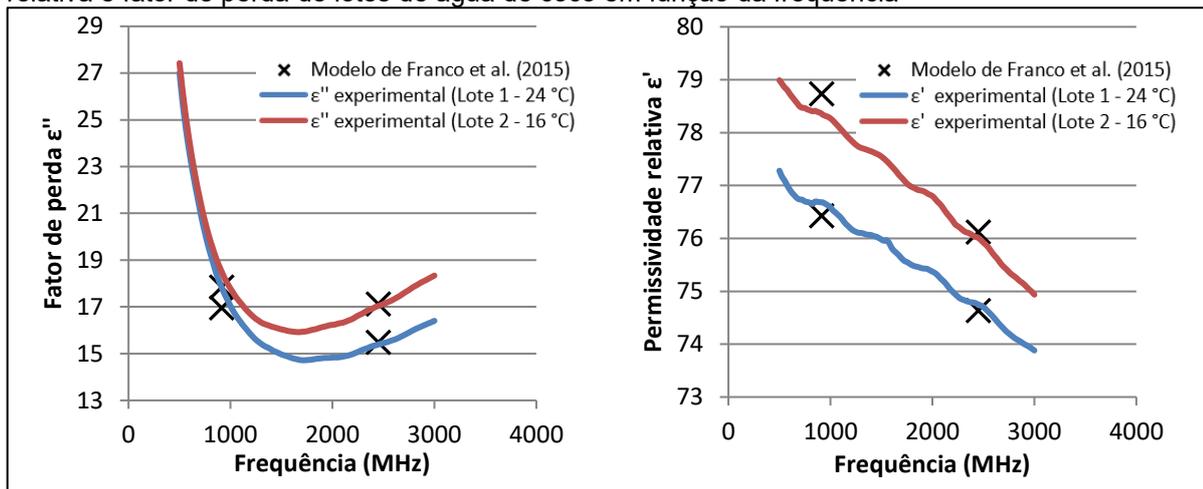
Propriedade	Água de coco (lote 1)	Água de coco (lote 2)	Suco de laranja
Densidade (g/mL)	1,023 ± 0,001	1,022 ± 0,001	1,049 ± 0,002
pH	5,21 ± 0,01	5,24 ± 0,01	3,62 ± 0,01
Turbidez (%)	31,4 ± 8,6	16,7 ± 1,7	71,8 ± 2,6
Sólidos solúveis totais (°Brix)	6,22 ± 0,10	5,51 ± 0,06	12,8 ± 0,1
Acidez titulável (% de ácido málico)	0,056 ± 0,003	0,066 ± 0,007	0,78 ± 0,04
Acidez titulável (% de ácido cítrico)	0,054 ± 0,004	0,063 ± 0,007	0,75 ± 0,04
Condutividade elétrica (mS/cm)	5,82 ± 0,03	6,48 ± 0,08	2,64 ± 0,21

Fonte: o próprio autor (2020)

Foi observado para as propriedades dielétricas da água de coco o comportamento esperado para a permissividade relativa e o fator de perda (Figura 5.1). Nas frequências comerciais de 915 MHz e 2450 MHz, há menos de 1,0 % de diferença entre as medidas experimentais e as previsões dos modelos ajustados por Franco et al. (2015). A partir das propriedades dielétricas, estima-se a profundidade de penetração das micro-ondas na água de coco conforme a eq.(3.30): 1,1 cm a 24 °C para a frequência de 2450 MHz. Usando os modelos polinomiais empíricos de Franco et al. (2015), observa-se que dp varia entre 1,0 cm e 1,2 cm para temperaturas entre 16 °C e 90 °C. Analogamente, Franco, Tadini e Gut (2017) relatam intervalo que a dp do suco de laranja (variedade Navel) varia entre 1,0 cm e 1,3 cm para temperaturas entre 20 °C e 90 °C. Um intervalo semelhante ao da água de coco era esperado, apesar da menor condutividade elétrica do suco de laranja, pois na frequência de 2,45 GHz a principal contribuição ao fator de perda é do mecanismo de rotação de dipolos. O tubo de ensaio tem espessura de 1 mm e foi considerado transparente às micro-ondas; segundo Carvalho, A., Carvalho, L. e Carvalho, J. (2016), para a frequência de

2450 MHz GHz o vidro apresenta $\epsilon' = 3,2$ e $\epsilon'' = 0,27$ (temperatura não relatada, suposta ambiente). Como a dp estimada é maior que o raio interno do tubo de ensaio (0,8 cm), pode-se assumir que todo o volume da amostra está submetido à radiação, e efeitos específicos ou não térmicos das micro-ondas atuariam sobre toda a amostra.

Figura 5.1: Medidas experimentais (linhas contínuas) e previsões de modelo (X) para permissividade relativa e fator de perda de lotes de água de coco em função da frequência



Fonte: o próprio autor (2020)

5.2 ENSAIOS DE TRATAMENTO TÉRMICO

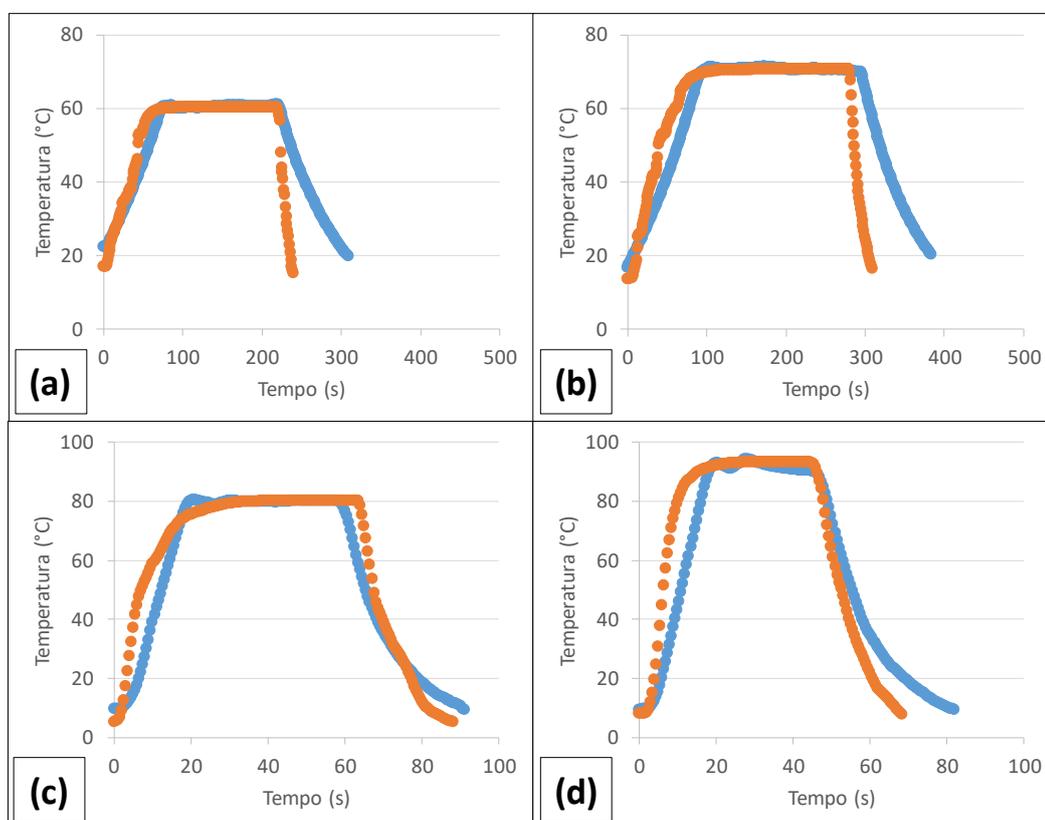
5.2.1 Adequação dos históricos tempo-temperatura

Ao comparar os efeitos de dois métodos de aquecimento, é essencial tornar os perfis tempo-temperatura semelhantes (PELEG; CORRADINI; NORMAND, 2012; KUBO et al., 2020). A Figura 5.2 apresenta exemplos de pares de históricos $T(t)$ de aquecimentos convencional e ôhmico ou dielétrico.

A fim de representar visualmente a comparação de todos os históricos $T(t)$ experimentais deste estudo, pode-se comparar os valores das letalidades integradas para cada par de tratamentos convencional e ôhmico/dielétrico. Para um dado valor de parâmetros de um modelo de inativação, se as letalidades integradas dos dois tratamentos forem iguais, isso implica históricos $T(t)$ semelhantes perto de T_{ref} (vide, por exemplo, eqs.(3.7) e (3.8)). As Figuras 5.3 a 5.5 comparam as letalidades integradas para todos os pares de aquecimento convencional e ôhmico/por micro-ondas usados neste estudo; cada ponto em cada uma dessas figuras equivale a comparar duas curvas de temperatura em função do tempo. Usou-se os parâmetros do modelo de Weibull apresentados nas Tabelas 5.2, 5.5 e 5.7 para as Figuras 5.3,

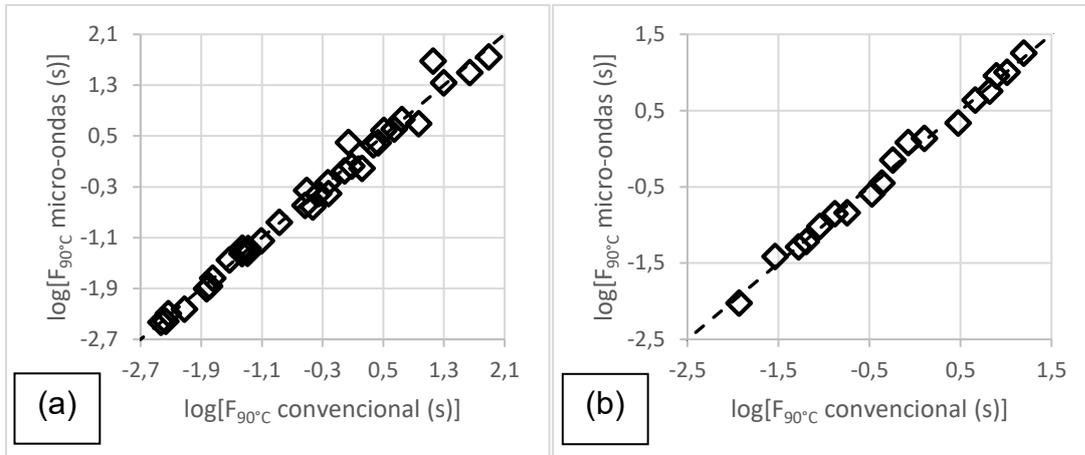
5.4 e 5.5, respectivamente. Os parâmetros do modelo de Weibull (D_r' , z e β) ajustados para aquecimento convencional foram usados para calcular a letalidade a partir dos históricos $T(t)$ tanto dos ensaios de aquecimento convencional quanto dos de aquecimento ôhmico ou por micro-ondas. Usar outro modelo ou outros valores para os parâmetros resultou em dispersões semelhantes sobre a reta 45°; a questão importante aqui é, em uma dada figura, fixar os valores dos parâmetros para calcular a letalidade de ambos conjuntos de perfis $T(t)$. Como os pontos estão proximamente distribuídos sobre a reta 45°, as letalidades integradas entre os métodos de aquecimento para cada par de pontos experimentais é similar – e portanto as curvas $T(t)$ são semelhantes. Ainda, a letalidade integrada considera toda a área sob a curva $Lt(t)$, que depende de toda a curva $T(t)$. Assim, os tratamentos podem ser comparados. Diferenças na inativação enzimática não podem ser atribuídas ao aquecimento ôhmico ou por micro-ondas ser mais rápido, como o fizeram Yousefi et al. (2012).

Figura 5.2: Exemplos de comparação de históricos tempo-temperatura entre aquecimentos convencional (laranja) e eletrotérmico (azul): (a) e (b) suco de laranja, aquecimento ôhmico; (c) e (d) água de coco e aquecimento por micro-ondas



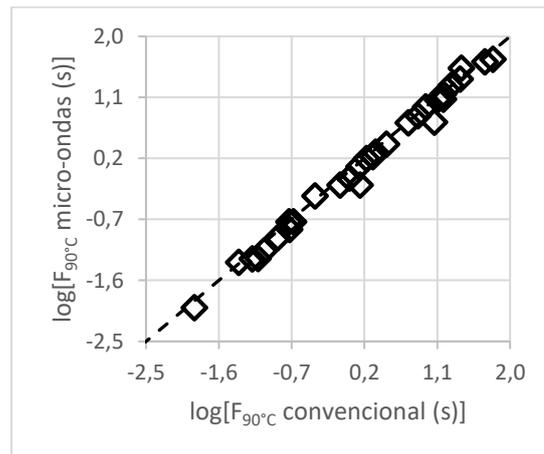
Fonte: o próprio autor (2020)

Figura 5.3: Comparação de letalidades integradas de ensaios para ajuste (a) e validação (b) de modelo de inativação de PPO em água de coco por aquecimento convencional e por micro-ondas



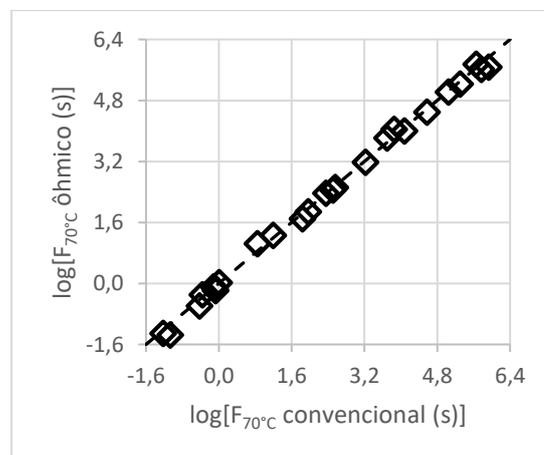
Fonte: o próprio autor (2020)

Figura 5.4: Comparação de letalidades integradas de ensaios para ajuste de modelo de inativação de POD em água de coco por aquecimento convencional e por micro-ondas



Fonte: o próprio autor (2020)

Figura 5.5: Comparação de letalidades integradas de ensaios para ajuste de modelo de inativação de PE em suco de laranja por aquecimento convencional e ôhmico



Fonte: o próprio autor (2020)

Essa adequação é importante ao avaliar processos térmicos alternativos e compará-los ao aquecimento por meios convencionais (AWUAH; RAMASWAMY; ECONOMIDES, 2007; PELEG; CORRADINI; NORMAND, 2012; SAMARANAYAKE; SASTRY, 2016a, 2016b; KUBO et al., 2020). No entanto, mesmo na literatura recente, tal comparação nem sempre apresenta este cuidado. Marszałek, Mitek e Skąpska (2015) também compararam um aquecimento contínuo por micro-ondas (25 °C a 120 °C em 6 s) a um tratamento convencional em batelada (20 °C a 90 °C em 44 min). Benlloch-Tinoco, Martínez-Navarrete e Rodrigo (2014) e Benlloch-Tinoco et al. (2014a) afirmam que as diferenças entre as curvas $T(t)$ podem ser desconsideradas ao usar-se F_{T_r} , e seu tratamento por micro-ondas sequer apresenta uma etapa de retenção. Siguemoto et al. (2018) comparam aquecimentos convencionais com retenção a 65 °C durante até 50 s com aquecimentos por micro-ondas sem etapa de retenção que duram até 200 s ou ultrapassam 80 °C. Tian et al. (2018) comparam um aquecimento ôhmico que atinge 72 °C em 3 min com um convencional que chega à mesma temperatura após 13 min. Makroo, Rastovi e Srivastava (2017) comparam aquecimentos ôhmico e convencional com 1 min e 5 min de retenção, respectivamente; Saxena, Makroo e Srivastava (2017) comparam aquecimentos convencionais durante 5 min a 20 min com ôhmicos durante 0,7 min a 4,5 min. Ainda, alguns estudos sequer apresentam suas curvas $T(t)$ para comparação (STRATAKOS et al., 2016; MAKROO et al., 2016; CHO et al., 2017; FARAHNAKY et al., 2018).

5.2.2 Ajustes dos modelos de inativação da PPO

Os valores médios e os desvios-padrão das leituras experimentais de A/A_0 usadas para ajuste dos modelos são apresentados no Apêndice A, com os tempos de retenção nominais e com as temperaturas de processo.

Os valores ajustados dos modelos cinéticos de inativação da PPO por aquecimento convencional se encontram na Tabela 5.2, com $T_r = 90$ °C. O valor de $\beta < 1$ no modelo de Weibull indica que a inativação da PPO ocorre a taxas decrescentes. O modelo de duas frações foi o único dentre os estudados que apresentou um ponto sub ótimo de convergência ($D_{90^\circ C, S} = 26,1$ s; $z_S = 17,9$ °C; $D_{90^\circ C, L} = 4,4 \cdot 10^{-2}$ s; $z_L = 18,3$ °C; $\alpha = 0,69$). O ajuste desse modelo apresentou maior tempo de resolução e maior influência da estimativa inicial na convergência, devido ao maior número de parâmetros.

Tabela 5.2: Parâmetros ajustados dos modelos de inativação da PPO em água de coco por aquecimento convencional

Modelo	Parâmetros ajustados – aquecimento convencional
Primeira ordem	$D_{90^{\circ}\text{C}} = 26,4 \text{ s}; z = 23,3 \text{ }^{\circ}\text{C}$
$m = 2$ frações	$D_{90^{\circ}\text{C},s} = 26,2 \text{ s}; z_s = 17,1 \text{ }^{\circ}\text{C}; D_{90^{\circ}\text{C},l} = 10,4 \text{ s}; z_l = 43,6 \text{ }^{\circ}\text{C}; \alpha = 0,68$
Fracional	$D_{90^{\circ}\text{C}} = 16,8 \text{ s}; z = 21,8 \text{ }^{\circ}\text{C}; A_{\infty}/A_0 = 0,13$
Weibull	$D'_{90^{\circ}\text{C}} = 30,1 \text{ s}; z = 16,3 \text{ }^{\circ}\text{C}; \beta = 0,50$

Fonte: o próprio autor (2020)

Murasaki-Aliberti et al. (2009), para a inativação térmica convencional da PPO em água de coco, encontraram $D_{87^{\circ}\text{C},s} = 11,3 \text{ min}$; $D_{87^{\circ}\text{C},l} = 6,0 \text{ s}$, $z_s = 5,7 \text{ }^{\circ}\text{C}$; $z_l = 5,5 \text{ }^{\circ}\text{C}$ e $\alpha = 0,88$. Tan et al. (2014) ajustaram um modelo de primeira ordem para a inativação da PPO, e relatam $z = 23,8 \text{ }^{\circ}\text{C}$ e $D_{84^{\circ}\text{C}} = 500 \text{ s}$ para água de cocos imaturos, e $z = 30,6 \text{ }^{\circ}\text{C}$ e $D_{84^{\circ}\text{C}} = 588 \text{ s}$ para a água de cocos maduros. As diferenças entre os parâmetros podem ser devido à interação entre componentes do alimento (MATSUI et al., 2007), ou a diferentes estágios de maturação (TAN et al., 2014).

Os valores ajustados dos modelos de inativação da PPO por aquecimento por micro-ondas se encontram na Tabela 5.3, com $T_r = 90 \text{ }^{\circ}\text{C}$. Foram obtidos $\beta < 1$ no modelo de Weibull e α no modelo de duas frações semelhantes aos da Tabela 5.2. O modelo de duas frações apresentou um ponto sub ótimo de convergência ($D_{90^{\circ}\text{C},s} = 6,3 \text{ s}$; $z_s = 11,7 \text{ }^{\circ}\text{C}$; $D_{90^{\circ}\text{C},l} = 5,2 \cdot 10^{-3} \text{ s}$; $z_l = 6,5 \text{ }^{\circ}\text{C}$; $\alpha = 0,87$), maior tempo de resolução e maior influência da estimativa inicial na convergência. Os valores de D , D'_r e z para o aquecimento por micro-ondas são menores que os para o aquecimento convencional. Matsui et al. (2008) encontraram $z = 17,6 \text{ }^{\circ}\text{C}$ e $D_{92^{\circ}\text{C}} = 52 \text{ s}$ para a inativação da PPO em água de coco por micro-ondas não focalizadas.

Tabela 5.3: Parâmetros ajustados dos modelos de inativação da PPO em água de coco por aquecimento por micro-ondas

Modelo	Parâmetros ajustados – aquecimento por micro-ondas
Primeira ordem	$D_{90^{\circ}\text{C}} = 6,0 \text{ s}; z = 12,6 \text{ }^{\circ}\text{C}$
$m = 2$ frações	$D_{90^{\circ}\text{C},s} = 5,2 \text{ s}; z_s = 10,1 \text{ }^{\circ}\text{C}; D_{90^{\circ}\text{C},l} = 4,9 \cdot 10^{-3} \text{ s}; z_l = 6,0 \text{ }^{\circ}\text{C}; \alpha = 0,69$
Fracional	$D_{90^{\circ}\text{C}} = 4,2 \text{ s}; z = 12,0 \text{ }^{\circ}\text{C}; A_{\infty}/A_0 = 0,08$
Weibull	$D'_{90^{\circ}\text{C}} = 3,0 \text{ s}; z = 7,9 \text{ }^{\circ}\text{C}; \beta = 0,46$

Fonte: o próprio autor (2020)

A Tabela 5.4 apresenta a comparação de critérios de seleção de modelos para o aquecimento convencional e por micro-ondas da água de coco, com os menores

valores destacados. Quanto menor o valor destes critérios de seleção, mais adequado é o ajuste do modelo aos dados experimentais. Pode-se afirmar que o modelo cinético de Weibull é o mais adequado dentre os estudados para descrever os dados experimentais de inativação térmica da PPO em água de coco, tanto por aquecimento convencional quanto por micro-ondas. O modelo de primeira ordem não considera a inativação enzimática a várias taxas ao longo do tempo, o modelo de duas frações apresenta problemas na convergência e foram observadas atividades residuais menores que o mínimo teórico do modelo fracional.

Tabela 5.4: Comparação de critérios de seleção para modelos cinéticos de inativação da PPO

Aquecimento	Modelo	SEQ	J_p	$S_p \cdot 10^4$	AIC	BIC
Convencional	1a ordem	0,44	0,49	4,3	-4,2	-4,2
	Fracional	0,38	0,45	3,9	-4,3	-4,2
	2 frações	0,21	0,28	2,5	-4,8	-4,7
	Weibull	0,23	0,27	2,4	-4,8	-4,7
Micro-ondas	1a ordem	0,30	0,33	2,9	-4,6	-4,6
	Fracional	0,25	0,30	2,6	-4,8	-4,7
	2 frações	0,15	0,21	1,8	-5,1	-5,0
	Weibull	0,14	0,17	1,5	-5,3	-5,2

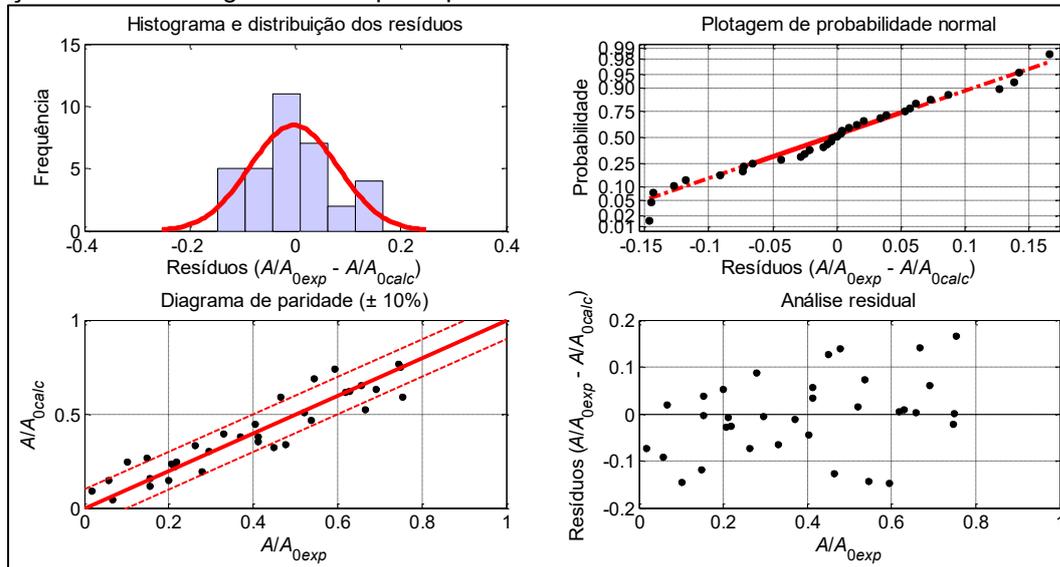
Fonte: o próprio autor (2020)

Os ajustes dos modelos para a inativação por aquecimento convencional foram avaliados conforme a seção 4.7.1; discutiremos apenas o modelo de Weibull, por ter se mostrado o mais adequado dentre os quatro modelos estudados para descrever os dados. As Figuras 5.6 e 5.7 representam graficamente a avaliação do ajuste do modelo de Weibull à inativação da PPO em água de coco em aquecimento convencional e por micro-ondas, respectivamente. Os resíduos apresentam distribuição aproximadamente normal segundo inspeção visual do histograma e do gráfico de probabilidade normal, e também segundo teste estatístico de Kolmogorov-Smirnov. Assim, SEQ pode ser usado como critério de minimização. Os resíduos foram graficados em função da atividade residual experimental. Os diagramas de paridade comparam os valores experimentais de A/A_0 aos calculados pelo modelo usando os parâmetros ajustados; conforme esperado, observa-se uma dispersão ao redor da bissetriz dos quadrantes ímpares.

Os valores médios e os desvios-padrão das leituras experimentais de A/A_0 usadas para validação dos modelos são apresentados no Apêndice A. Para temperaturas de

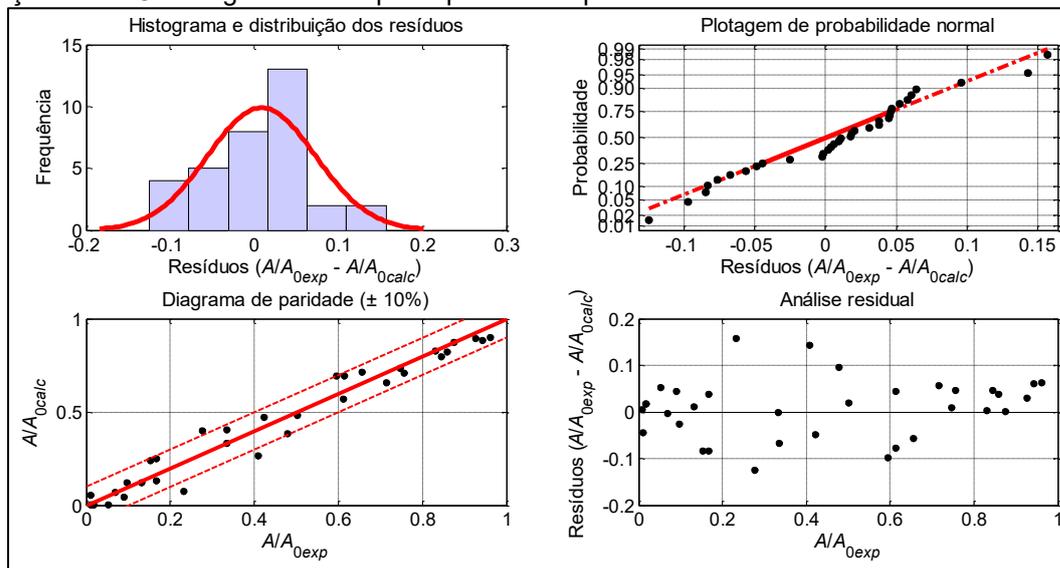
processo de 65 °C, a atividade residual obtida foi maior para o aquecimento por micro-ondas. O contrário ocorreu para temperaturas de processo de 85 °C.

Figura 5.6: Avaliação dos resíduos e diagrama de paridade para ajuste do modelo de Weibull para inativação da PPO em água de coco por aquecimento convencional



Fonte: o próprio autor (2020)

Figura 5.7: Avaliação dos resíduos e diagrama de paridade para ajuste do modelo de Weibull para inativação da PPO em água de coco por aquecimento por micro-ondas

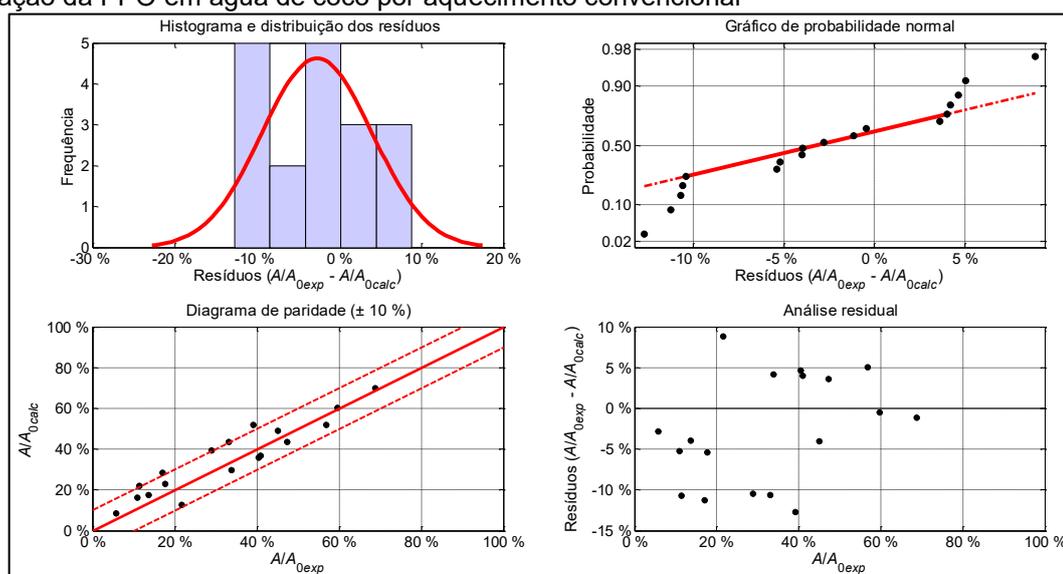


Fonte: o próprio autor (2020)

A Figura 5.8 representa graficamente a validação para aquecimento convencional do ajuste do modelo de Weibull, conforme a seção 4.7.3. Observa-se dispersão adequada no diagrama de paridade. Em particular, o uso do modelo de Weibull aprimorou a previsão da atividade residual para os ensaios de 1 s, 10 s e 20 s a 75 °C, tempos curtos a temperaturas intermediárias. Dado o aquecimento mais lento imposto na validação, estes conjuntos foram inativados separadamente das frações

mais resistentes e mais frágeis. Uma fração de resistência térmica intermediária não seria prevista pelos outros modelos estudados. A validação segundo o modelo de duas frações resultou em $SEQ = 0,16$ e $R_{aj}^2 = 0,76$, enquanto a validação segundo o modelo de Weibull resultou em $SEQ = 0,13$ e $R_{aj}^2 = 0,84$.

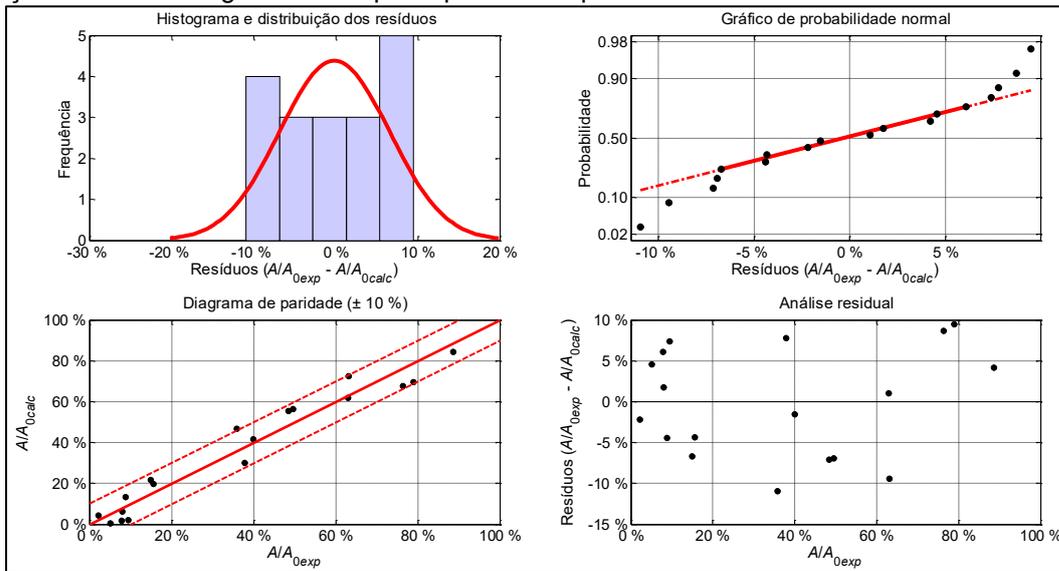
Figura 5.8: Avaliação dos resíduos e diagrama de paridade para validação do modelo de Weibull para inativação da PPO em água de coco por aquecimento convencional



Fonte: o próprio autor (2020)

A Figura 5.9 representa graficamente a validação para aquecimento por micro-ondas do ajuste do modelo de Weibull, conforme descrito na seção 4.7.3. A validação segundo o modelo de Weibull apresenta menor dispersão no diagrama de paridade que os demais modelos, como no caso da validação dos modelos para aquecimento convencional. Novamente, a melhor descrição do modelo de Weibull para a inativação por aquecimento lento pode se dever à hipótese de uma distribuição de resistências térmicas distintas. A validação segundo o modelo de duas frações resultou em $SEQ = 0,15$ e $R_{aj}^2 = 0,918$, enquanto a validação segundo o modelo de Weibull resultou em $SEQ = 0,12$ e $R_{aj}^2 = 0,942$.

Figura 5.9: Avaliação dos resíduos e diagrama de paridade para validação do modelo de Weibull para inativação da PPO em água de coco por aquecimento por micro-ondas

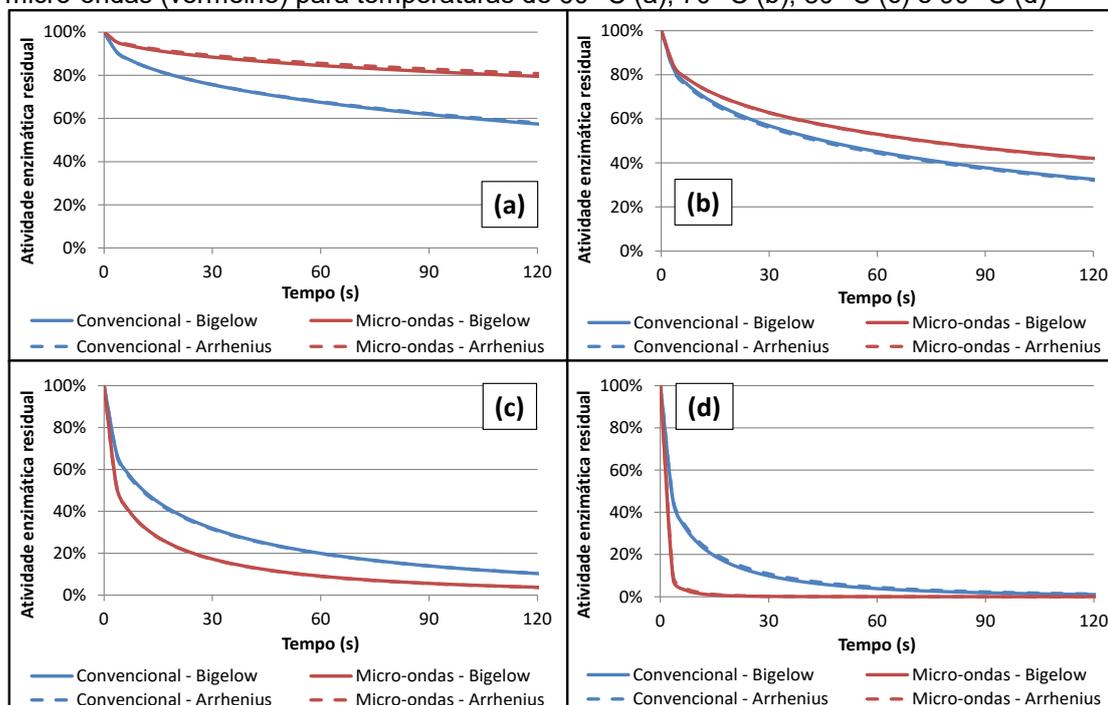


Fonte: o próprio autor (2020)

Em vista do discutido, o modelo cinético de Weibull foi o modelo mais adequado dentre os estudados neste trabalho para descrever a inativação térmica da PPO em água de coco. Conforme Tabela 5.4, o modelo apresentou o melhor ajuste para aquecimento por micro-ondas e um ajuste bom para aquecimento convencional, com apenas três parâmetros (contra cinco do modelo de duas frações). O modelo de Weibull também apresentou a melhor capacidade de previsão durante a validação, para os aquecimentos convencional e por micro-ondas, por considerar a inativação a taxas diferentes devido à integração de todo o histórico $T(t)$. Por fim, ao contrário do modelo de duas frações, quando se utilizou o modelo de Weibull não foram observados problemas de convergência.

Para verificar o impacto da escolha do modelo matemático na previsão da inativação enzimática, foram ajustados os parâmetros do modelo de Arrhenius ($k-E_a$). Observou-se que os parâmetros referentes às diferenças entre as resistências térmicas de frações distintas (A_∞/A_0 , α e β) apresentaram valores semelhantes aos das Tabelas 5.2 e 5.3. As atividades residuais previstas pelo modelo de Weibull foram comparadas considerando os modelos secundários de Arrhenius e Bigelow (Figura 5.10).

Figura 5.10: Comparação de modelos secundários de Bigelow e Arrhenius em simulações teóricas do modelo de Weibull para inativação da PPO em água de coco por aquecimento convencional (azul) e por micro-ondas (vermelho) para temperaturas de 60 °C (a), 70 °C (b), 80 °C (c) e 90 °C (d)



Fonte: o próprio autor (2020)

Pode-se observar na Figura 5.10 que, conforme apontaram Lewis e Heppel (2000), a diferença entre esses modelos secundários não é significativa. Foi observado um tempo de processamento computacional maior quando o modelo de Arrhenius era utilizado. Isso se deve ao difícil ajuste do parâmetro k . Os parâmetros do modelo de Bigelow, portanto, não só apresentam interpretação mais intuitiva como também são de ajuste e uso mais prático.

Comparando os valores na Tabela 5.2 (aquecimento convencional) e 5.3 (aquecimento por micro-ondas), uma primeira análise concluiria que há indícios de efeitos não térmicos ou específicos das micro-ondas sobre a inativação da PPO em água de coco. Afinal, o mesmo lote de produto foi submetido a tratamentos térmicos com históricos semelhantes, e os valores dos parâmetros do modelo se mostraram menores para o aquecimento por micro-ondas. No entanto, a simulação na Figura 5.10 indica que a diferença entre os métodos de aquecimento depende da temperatura de processo: a inativação da PPO por micro-ondas é menos eficaz que o tratamento convencional às temperaturas de 60 °C e 70 °C, e o contrário ocorre às temperaturas de 80 °C e 90 °C. A temperatura à qual ocorre a transição da eficácia relativa entre os métodos de aquecimento varia entre 72 °C e 75 °C. Tal dependência dos supostos

efeitos da micro-onda com a temperatura de processo foi observada para os quatro modelos avaliados neste trabalho.

É possível que esses efeitos dependam da potência incidente – para atingir maiores temperaturas de processo, foram usadas potências maiores conforme a Tabela 4.1, que poderiam tornar mais intenso o efeito da micro-onda sobre a PPO. A alteração de uma condição ambiental, como a aplicação de radiação, pode alterar a dispersão e a moda da distribuição de resistências térmicas da PPO presente na amostra (mudança nos parâmetros z e β), tornando-a mais suscetível à desnaturação devido ao efeito térmico tradicional (PELEG; COLE, 1998). A hipótese da estabilização de intermediários polares pelo campo elétrico incidente é sugerida na síntese de compostos orgânicos (KAPPE; DALLINGER, 2006; HOZ; DÍAZ-ORTÍZ; MORENO, 2007; DÍAZ-ORTÍZ et al., 2011). No entanto, mesmo que haja uma forma intermediária eletricamente carregada na desnaturação da PPO, a água presente na água de coco já é um solvente polar.

É importante observar que as hipóteses sugeridas para o efeito observado das micro-ondas sobre a PPO não sugerem a razão do aquecimento convencional ser mais eficaz a temperaturas (potências) de processo menores. Adicionalmente, a potência utilizada durante a retenção é baixa (≤ 6 W), para compensar as perdas ao ambiente e manter a temperatura aproximadamente constante. Assim, os efeitos das micro-ondas seriam mais expressivos durante a rampa de aquecimento; portanto, poderiam ser desprezíveis para maiores tempos de retenção.

Na indústria, a água de coco é pasteurizada entre 75 °C e 90 °C (ROSA; ABREU, 2000). Nessa faixa, o aquecimento por micro-ondas se mostrou mais eficaz que o tratamento convencional em inativar a PPO. Assim, seria possível processar a água de coco a temperaturas menores. Conforme a Figura 5.10, no entanto, a eficácia relativa do aquecimento por micro-ondas diminui com temperaturas menores. Assim, pode ser interessante diminuir o tempo de retenção – por exemplo, a 90 °C a inativação obtida após 70 s de aquecimento convencional poderia ser atingida com 7 s no aquecimento por micro-ondas, segundo simulação teórica. Obviamente, é necessária a ampliação do processamento por micro-ondas para escala piloto e regime contínuo, que permitirá confirmar ou desmentir essas e outras potenciais vantagens do tratamento térmico de água de coco por micro-ondas.

5.2.3 Ajustes dos modelos de inativação da POD

Os valores médios e os desvios-padrão das leituras experimentais de A/A_0 usadas para ajuste dos modelos são apresentados no Apêndice A, com os tempos de retenção nominais e com as temperaturas de processo. Observa-se que a POD recuperou parte expressiva de sua atividade para tempos longos de processamento às temperaturas de 70 °C e 80 °C – inclusive com atividades maiores que a original. A POD se mostrou mais termorresistente que a PPO, em concordância com dados de Murasaki-Aliberti et al. (2009) para água de coco.

Os valores ajustados dos modelos cinéticos de inativação da POD por aquecimento convencional se encontram na Tabela 5.5, com $T_r = 90$ °C. O ajuste do modelo fracional resultou no modelo de primeira ordem. O ajuste do modelo de duas frações, como no ajuste da inativação da PPO, apresentou maior tempo de resolução computacional e maior influência da estimativa inicial no processo de convergência. A POD mostrou termorresistência maior que a PPO (valores de D maiores), o que a tornaria mais útil para avaliar a eficácia do processamento. Murasaki-Aliberti et al. (2009), para a inativação térmica convencional da POD em água de coco, ajustaram um modelo de duas frações e encontraram $D_{87^\circ\text{C},s} = 26,3$ min; $D_{87^\circ\text{C},l} = 8,6$ s, $z_s = 6,9$ °C; $z_l = 3,4$ °C e $\alpha = 0,95$. Tan et al. (2014) ajustaram modelo de primeira ordem para a inativação da POD, e relatam $z = 13,5$ °C e $D_{84^\circ\text{C}} = 141$ s para água de cocos imaturos, e $z = 15,4$ °C e $D_{84^\circ\text{C}} = 133$ s para a água de cocos maduros – segundo os autores, a POD se mostrou menos termorresistente que a PPO em água de coco, em concordância com Campos et al. (1996). Fontan et al. (2012) relatam $D_{95^\circ\text{C}} = 1,63$ min e $z = 7,4$ °C, e Rojas et al. (2016) relatam $D_{90^\circ\text{C}} = 69,8$ s, $z = 4,51$ °C e $\beta = 0,86$.

Tabela 5.5: Parâmetros ajustados dos modelos de inativação da POD em água de coco por aquecimento convencional

Modelo	Parâmetros ajustados – aquecimento convencional
Primeira ordem	$D_{90^\circ\text{C}} = 75,6$ s; $z = 22,6$ °C
$m = 2$ frações	$D_{90^\circ\text{C},s} = 96,4$ s; $z_s = 2,7$ °C; $D_{90^\circ\text{C},l} = 13,1$ s; $z_l = 24,6$ °C; $\alpha = 0,70$
Fracional	$D_{90^\circ\text{C}} = 75,6$ s; $z = 22,6$ °C; $A_\infty/A_0 = 0,00$
Weibull	$D'_{90^\circ\text{C}} = 91,4$ s; $z = 20,5$ °C; $\beta = 0,82$

Fonte: o próprio autor (2020)

Os valores ajustados dos modelos de inativação da POD por aquecimento por micro-ondas se encontram na Tabela 5.6, com $T_r = 90$ °C. Ao contrário do ocorrido para a PPO, os parâmetros α , β e A_∞/A_0 ajustados não foram similares entre o aquecimento convencional e por micro-ondas. O modelo de duas frações também apresentou maior tempo de resolução e maior influência da estimativa inicial na convergência. Os valores ajustados de D , D' e z para o aquecimento por micro-ondas são menores que os para o aquecimento convencional – observa-se menor resistência da POD ao aquecimento por micro-ondas focalizadas. Matsui et al. (2008) encontraram $z = 11,5$ °C e $D_{93^\circ\text{C}} = 16$ s para a inativação da POD em água de coco por aquecimento por micro-ondas não focalizadas.

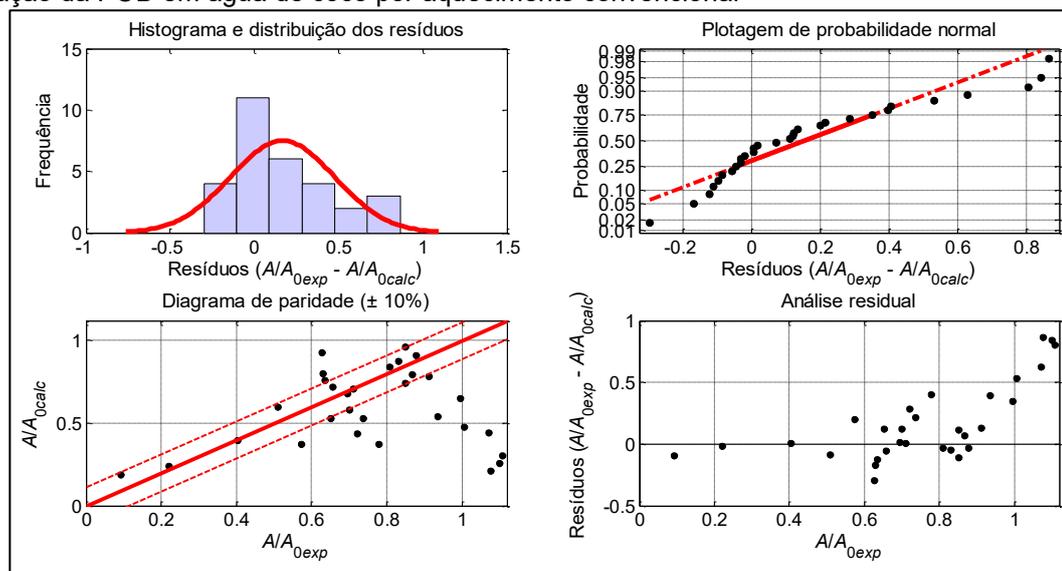
Tabela 5.6: Parâmetros ajustados dos modelos de inativação da POD em água de coco por aquecimento micro-ondas

Modelo	Parâmetros ajustados – aquecimento por micro-ondas
Primeira ordem	$D_{90^\circ\text{C}} = 21,8$ s; $z = 16,5$ °C
$m = 2$ frações	$D_{90^\circ\text{C},s} = 75,9$ s; $z_s = 6,0$ °C; $D_{90^\circ\text{C},l} = 3,0$ s; $z_l = 12,5$ °C; $\alpha = 0,46$
Fracional	$D_{90^\circ\text{C}} = 9,9$ s; $z = 14,3$ °C; $A_\infty/A_0 = 0,19$
Weibull	$D'_{90^\circ\text{C}} = 61,6$ s; $z = 9,6$ °C; $\beta = 0,37$

Fonte: o próprio autor (2020)

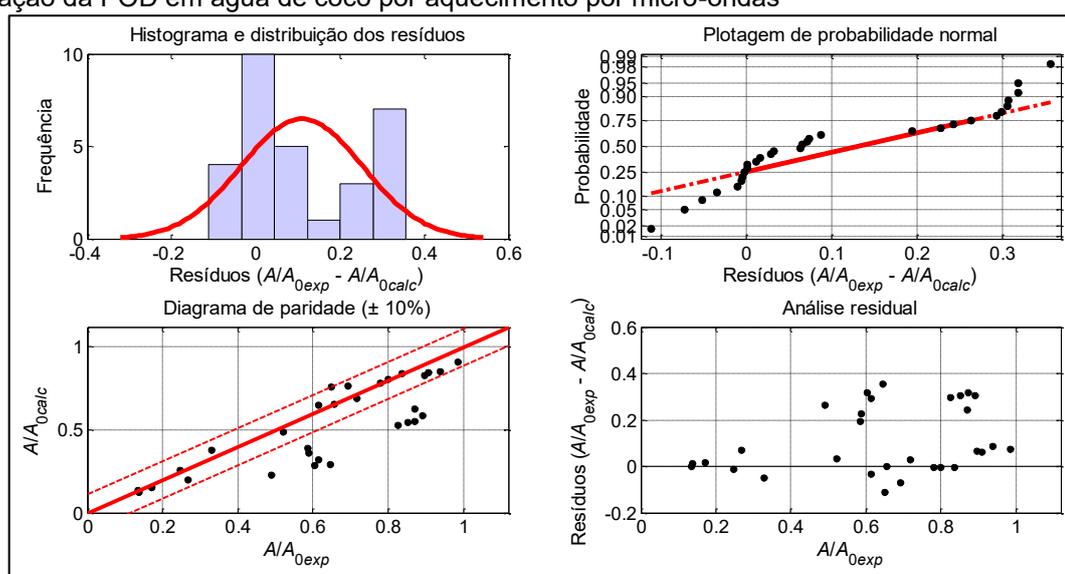
Devido à sobreativação da atividade da POD, nenhum dos modelos estudados apresentou ajuste satisfatório – especialmente para as temperaturas de 70 °C e 80 °C. As Figuras 5.11 e 5.12 mostram, a título de exemplo, a avaliação gráfica do ajuste do modelo de Weibull para inativação por aquecimento convencional e por micro-ondas, respectivamente. Observa-se grande dispersão nos diagramas de paridade. Aguiar; Yamashita e Gut (2012) também relataram semelhante dispersão levando a dificuldades em ajustar um modelo de duas frações a dados de atividade residual da POD devido à sobreativação.

Figura 5.11: Avaliação dos resíduos e diagrama de paridade para ajuste do modelo de Weibull para inativação da POD em água de coco por aquecimento convencional



Fonte: o próprio autor (2020)

Figura 5.12: Avaliação dos resíduos e diagrama de paridade para ajuste do modelo de Weibull para inativação da POD em água de coco por aquecimento por micro-ondas



Fonte: o próprio autor (2020)

5.2.4 Ajustes dos modelos de inativação da PE

Os valores médios e os desvios-padrão das leituras experimentais de A/A_0 usadas para ajuste dos modelos são apresentados no Apêndice A, com os tempos de retenção nominais e com as temperaturas de processo.

Os valores ajustados dos modelos cinéticos de inativação da PE por aquecimento convencional se encontram na Tabela 5.7, com $T_r = 70$ °C. O valor de $\beta < 1$ no modelo

de Weibull indica que a inativação da PE ocorre a taxas decrescentes. O ajuste do modelo de duas frações apresentou o maior tempo de resolução computacional.

Tabela 5.7: Parâmetros ajustados dos modelos de inativação da PE em suco de laranja por aquecimento convencional

Modelo	Parâmetros ajustados – aquecimento convencional
Primeira ordem	$D_{70^{\circ}\text{C}} = 22,7 \text{ s}; z = 8,4 \text{ }^{\circ}\text{C}$
$m = 2$ frações	$D_{70^{\circ}\text{C},s} = 62,0 \text{ s}; z_s = 27,9 \text{ }^{\circ}\text{C}; D_{70^{\circ}\text{C},l} = 0,08 \text{ s}; z_l = 2,2 \text{ }^{\circ}\text{C}; \alpha = 0,53$
Fracional	$D_{70^{\circ}\text{C}} = 20,0 \text{ s}; z = 8,2 \text{ }^{\circ}\text{C}; A_{\infty}/A_0 = 0,03$
Weibull	$D'_{70^{\circ}\text{C}} = 22,6 \text{ s}; z = 5,4 \text{ }^{\circ}\text{C}; \beta = 0,43$

Fonte: o próprio autor (2020)

Nikdel et al. (1993) relatam $D_{90,5^{\circ}\text{C}} = 7,5 \text{ s}$ para aquecimento convencional de suco de laranja. Tajchakavit e Ramaswamy (1995, 1997) encontraram $D_{90^{\circ}\text{C}} = 3,5 \text{ s}$ e $z = 17,5 \text{ }^{\circ}\text{C}$ para a PE em suco de laranja pasteurizado. Tribess e Tadini (2006) ajustaram o modelo de duas frações a dados de inativação de PE em sucos cítricos com pH controlado, e para pH 3,6 relatam $D_{87,5^{\circ}\text{C},l} = 4,11 \text{ s}$ e $D_{87,5^{\circ}\text{C},s} = 2303 \text{ s}$. Observa-se que a PE estudada no presente trabalho mostrou resistência térmica inferior à relatada nesses estudos. Katsaros et al. (2010) compararam parâmetros cinéticos de inativação da PE em suco de laranja e afirma que eles podem variar até 50 vezes dependendo da variedade de laranja.

Os valores ajustados dos modelos de inativação da PE por aquecimento ôhmico se encontram na Tabela 5.8, com $T_r = 70 \text{ }^{\circ}\text{C}$. Os valores de $\beta < 1$ no modelo de Weibull e de α no modelo de duas frações não são semelhantes aos da Tabela 5.7. Os valores de D e z para o aquecimento ôhmico são menores que os para o aquecimento convencional; curiosamente, o mesmo não ocorre para D' . Castro et al. (2004) estudaram a inativação da PE em solução tampão e encontraram $D_{60^{\circ}\text{C}} = 14 \text{ s}$, $z = 8,1 \text{ }^{\circ}\text{C}$ para aquecimento convencional e $D_{60^{\circ}\text{C}} = 15 \text{ s}$, $z = 7,7 \text{ }^{\circ}\text{C}$ para aquecimento ôhmico (50 Hz, 50-90 V / cm) ao ajustar um modelo de primeira ordem. Eles atribuíram a aparente falta de diferenças à PE não possuir um grupo metálico que poderia ser afetado pelo campo elétrico em sua estrutura. Por outro lado, Jakób et al. (2010) relataram parâmetros cinéticos para inativação de PE em suco de amora e de maçã, e concluíram que o aquecimento ôhmico a aumentou a inativação (por “uma contribuição muito pequena”, p. 373, tradução nossa) quando comparado ao aquecimento convencional a 54-66 ° C.

Tabela 5.8: Parâmetros ajustados dos modelos de inativação da PE em suco de laranja por aquecimento ôhmico

Modelo	Parâmetros ajustados – aquecimento convencional
Primeira ordem	$D_{70^{\circ}\text{C}} = 16,9 \text{ s}; z = 7,1^{\circ}\text{C}$
$m = 2$ frações	$D_{70^{\circ}\text{C},s} = 20,7 \text{ s}; z_s = 5,5^{\circ}\text{C}; D_{70^{\circ}\text{C},l} = 0,35 \text{ s}; z_l = 5,1^{\circ}\text{C}; \alpha = 0,65$
Fracional	$D_{70^{\circ}\text{C}} = 14,3 \text{ s}; z = 6,9^{\circ}\text{C}; A_{\infty}/A_0 = 0,05$
Weibull	$D'_{70^{\circ}\text{C}} = 64,3 \text{ s}; z = 4,2^{\circ}\text{C}; \beta = 0,27$

Fonte: o próprio autor (2020)

A Tabela 5.9 apresenta a comparação de critérios de seleção de modelos para o aquecimento convencional e ôhmico do suco de laranja, com os menores valores destacados. Como observado na Tabela 5.4, o modelo cinético de Weibull é o mais adequado dentre os estudados para descrever os dados experimentais de inativação térmica da PE em suco de laranja pelos dois métodos de aquecimento. O modelo de primeira ordem não considera a inativação enzimática a várias taxas ao longo do tempo, o modelo de duas frações apresenta problemas na convergência e foram observadas atividades residuais menores que o mínimo teórico do modelo fracional.

Tabela 5.9: Comparação de critérios de seleção para modelos cinéticos de inativação da PE

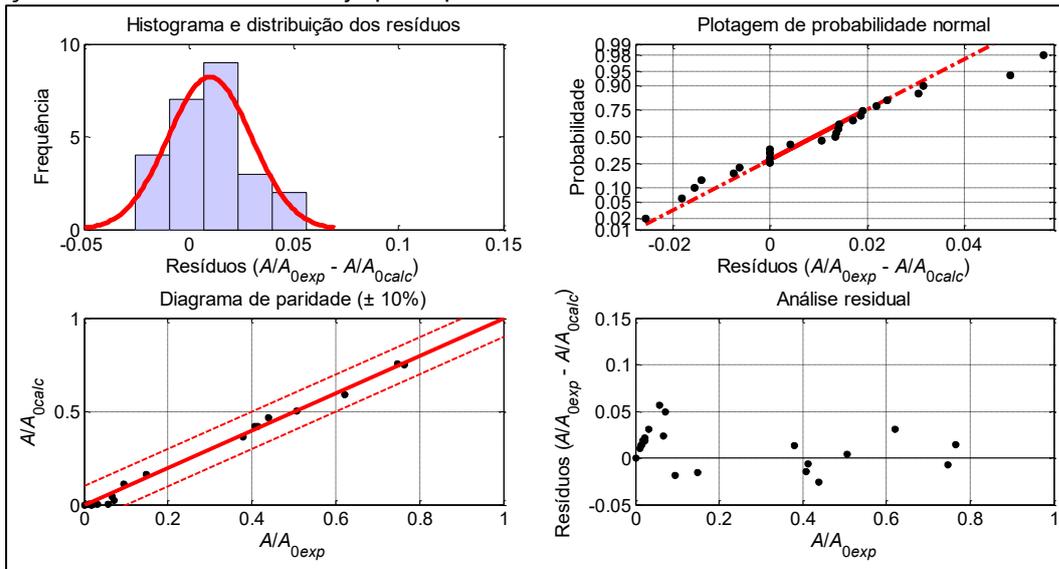
Aquecimento	Modelo	SEQ	J_p	$S_p \cdot 10^4$	AIC	BIC
Convencional	1a ordem	0,11	0,13	2,1	-5,3	-5,2
	Fracional	0,10	0,13	2,0	-5,3	-5,2
	2 frações	0,01	0,02	0,2	-7,4	-7,3
	Weibull	0,01	0,01	0,2	-7,6	-7,4
Ôhmico	1a ordem	0,18	0,21	3,4	-4,8	-4,7
	Fracional	0,15	0,18	3,0	-4,9	-4,8
	2 frações	0,06	0,08	1,4	-5,8	-5,6
	Weibull	0,03	0,04	0,7	-6,3	-6,2

Fonte: o próprio autor (2020)

Os ajustes dos modelos para a inativação por aquecimento convencional foram avaliados conforme a seção 4.7.1; novamente, discutiremos apenas o modelo de Weibull, por ter se mostrado o mais adequado dentre os estudados. As Figuras 5.13 e 5.14 representam graficamente a avaliação do ajuste do modelo de Weibull à inativação da PE em água de coco em aquecimento convencional e ôhmico, respectivamente. Os resíduos apresentam distribuição aproximadamente normal segundo inspeção visual do histograma e do gráfico de probabilidade normal, e também segundo teste estatístico de Kolmogorov-Smirnov. Assim, SEQ pode ser

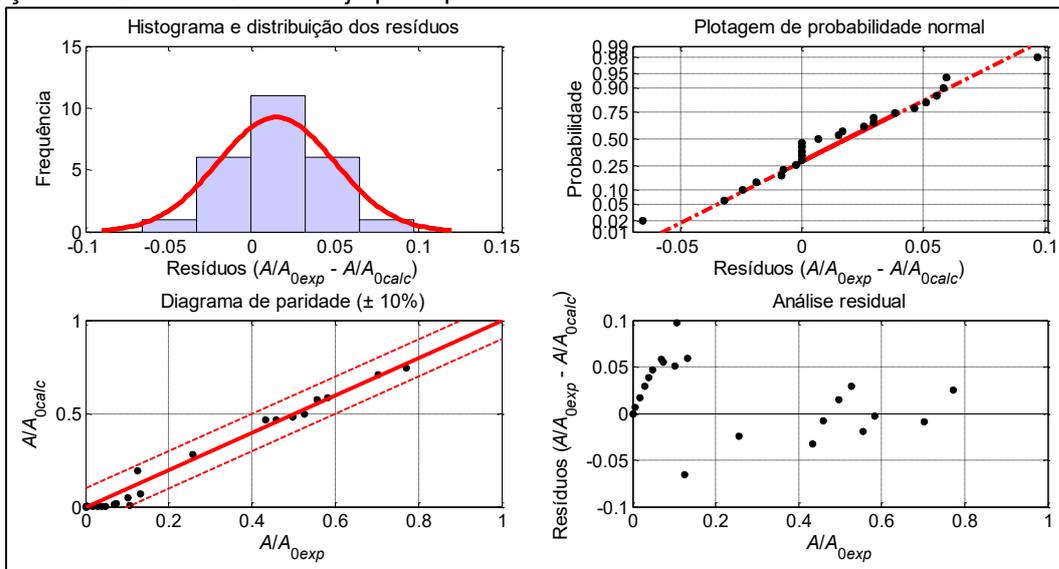
usado como critério de minimização. Os resíduos foram graficados em função da atividade residual experimental. Os diagramas de paridade comparam os valores experimentais de A/A_0 aos calculados pelo modelo usando os parâmetros ajustados; conforme esperado, observa-se uma dispersão ao redor da bissetriz dos quadrantes ímpares.

Figura 5.13: Avaliação dos resíduos e diagrama de paridade para ajuste do modelo de Weibull para inativação da PE em suco de laranja por aquecimento convencional



Fonte: o próprio autor (2020)

Figura 5.14: Avaliação dos resíduos e diagrama de paridade para ajuste do modelo de Weibull para inativação da PE em suco de laranja por aquecimento ôhmico

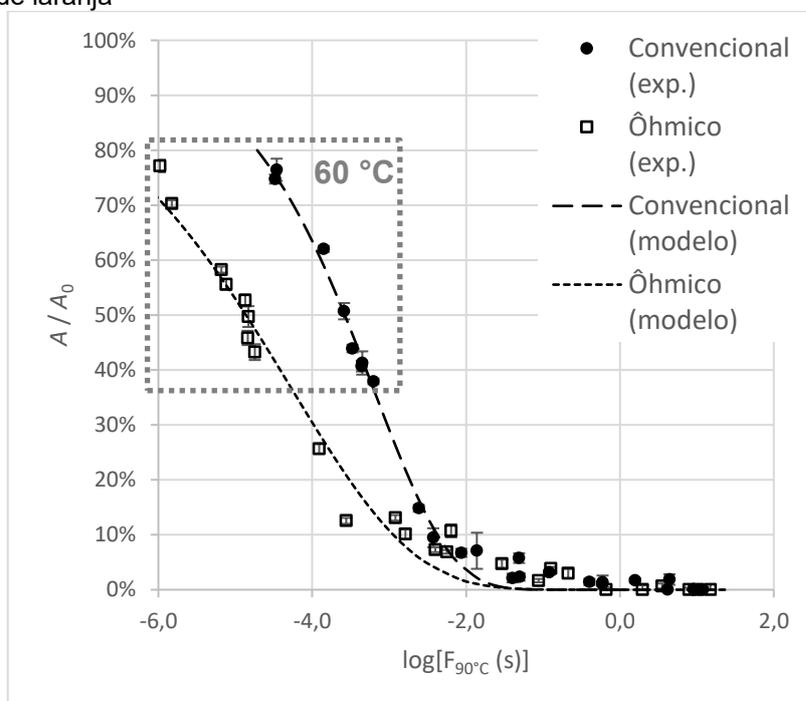


Fonte: o próprio autor (2020)

A Figura 5.15 apresenta o modelo ajustado aos dados experimentais, e também compara resultados para aquecimento convencional e ôhmico. É evidente que tanto

as previsões do modelo quanto os dados experimentais mostram uma diferença na atividade residual em tempos equivalentes mais baixos. Na prática, eles correspondem às experiências em uma temperatura de espera de 60 °C (e um campo elétrico de 32-33 V/cm no caso do aquecimento ôhmico), quando a inativação da PE sujeita a campos elétricos e calor parece ter sido aumentada comparativamente ao aquecimento convencional sozinho. As curvas de inativação previstas e a atividade residual experimental coincidem à medida que a letalidade integrada (intensidade do processo térmico) aumenta, correspondendo a experimentos de pasteurização realizados a 70-90 °C. Isso pode significar que em baixas temperaturas de processamento, existem condições em que os campos elétricos alternados afetam significativamente a atividade enzimática, mas à medida que a temperatura aumenta, a desnaturação térmica supera esses efeitos do campo elétrico. Se esses efeitos na atividade enzimática fossem devidos ao movimento molecular e alterações conformacionais induzidas pelo campo elétrico alternado, conforme sugerido por Samaranyake e Sastry (2018) a 60 °C, faria sentido que o aumento do movimento molecular aleatório pudesse desempenhar um papel maior a temperaturas mais altas.

Figura 5.15: Comparação de ensaios experimentais e previsões do modelo de Weibull para inativação da PE em suco de laranja



É interessante observar que as diferenças entre o aquecimento convencional e o por campos elétricos alternados expostas aqui para PE em suco de laranja parecem o

oposto do discutido anteriormente para a PPO em água de coco. Na seção 5.2.2, observamos que o efeito das micro-ondas sobre a inativação da PPO em água de coco parecia aumentar com a temperatura (ou potência incidente durante a rampa de aquecimento). Já para a PE em suco de laranja, quanto maior a temperatura menor a diferença na inativação entre as duas formas de aquecimento. Não só os parâmetros cinéticos dos modelos de inativação podem diferir entre métodos de aquecimento, como também os próprios efeitos podem ser diferentes dependendo da matriz alimentar, da estrutura molecular e das condições concomitantes de processo como temperatura e frequência. Portanto, novas tecnologias podem ter efeitos relativos diferentes nos indicadores e alvos tradicionais de processamento de alimentos. Isso destaca a importância de verificar esses parâmetros e modelos para vários micro-organismos, enzimas, nutrientes e propriedades de interesse, a fim de garantir que tecnologias alternativas de processamento resultem em alimentos seguros e de alta qualidade.

5.3 INCERTEZA DOS PARÂMETROS DOS MODELOS

Ao comparar parâmetros de modelos cinéticos entre dois processos distintos, devemos estimar a distribuição de tais parâmetros a fim de avaliar se as diferenças observadas são estatisticamente significativas. Os parâmetros cinéticos de Weibull D' , z e β tiveram suas populações estimadas através dos métodos de Monte Carlo de *bootstrap* e *jackknife* conforme descrito na seção 4.7.2. As distribuições obtidas com esses métodos estocásticos foram também comparadas ao desvio-padrão hipotético no caso de um modelo linear nos parâmetros (eqs. (3.23) a (3.27)).

A Tabela 5.10 apresenta os valores médios e os desvios estimados dos parâmetros do modelo de Weibull para a inativação da PPO por aquecimento convencional e por micro-ondas. Os valores ajustados são os relatados nas Tabelas 5.2 e 5.3. Utilizou-se $T_r = 80$ °C para não estimar a distribuição do parâmetro D' próximo ao valor 0, o que perturbaria a estimativa do desvio pela impossibilidade física de D' ser negativo. Observa-se que, conforme esperado, as médias das distribuições estimadas são semelhantes aos valores ajustados dos parâmetros. Com relação aos desvios-padrão, observa-se na Tabela 5.10 que eles dependem da metodologia empregada para propagação da incerteza experimental. Uma abordagem conservativa seria tomar sempre o maior valor dentre os estimados para o desvio-padrão, porém pode não ser

possível a priori saber qual método empregar. Para o aquecimento convencional, os maiores desvios foram os estimados pelo *jackknife*; já para o por micro-ondas, os maiores foram os resultantes do *bootstrap*.

Tabela 5.10: Médias e desvios-padrão para os parâmetros do modelo de Weibull para inativação da PPO por aquecimento convencional e por micro-ondas

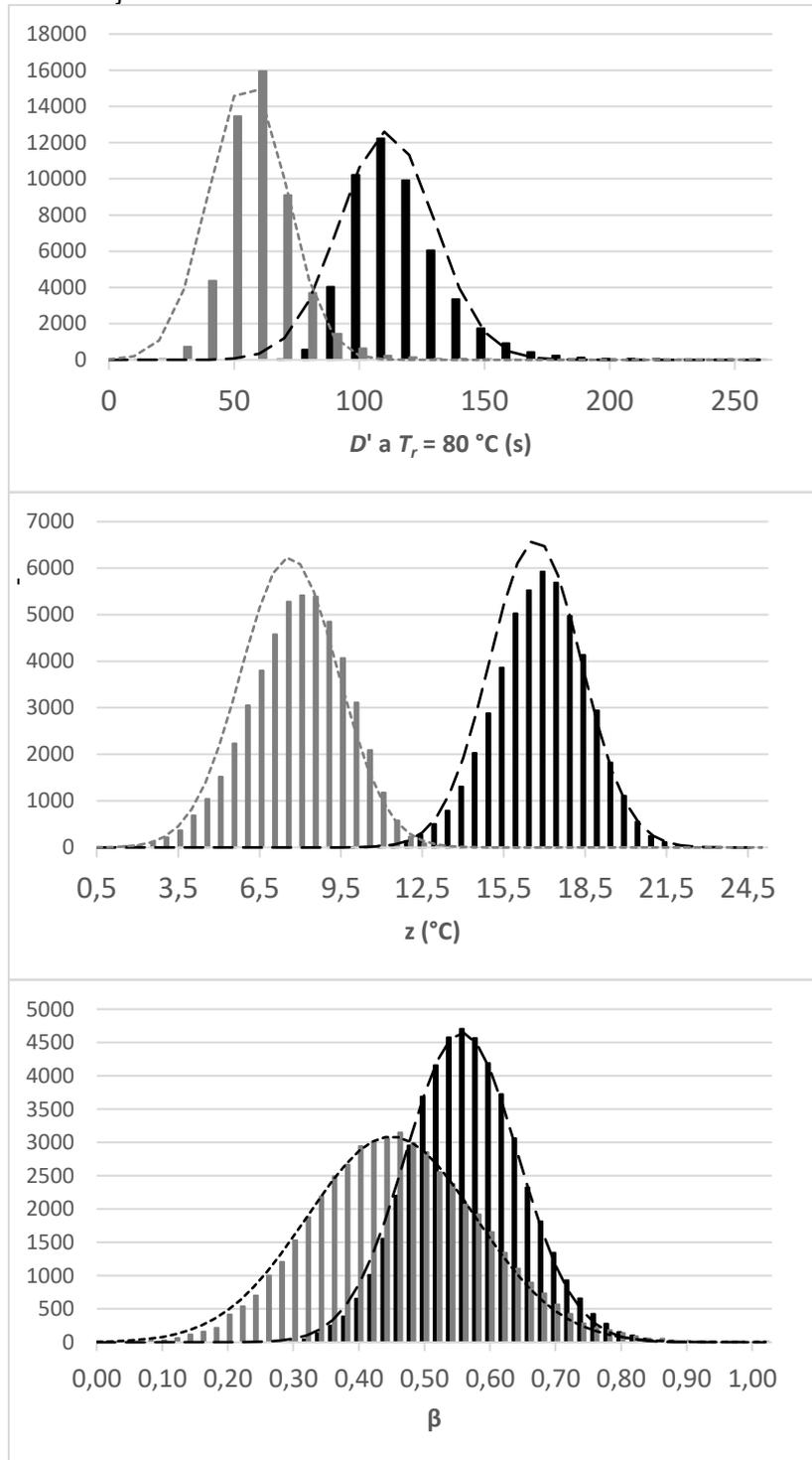
	Aq. convencional			Aq. por micro-ondas		
	$D'_{80^{\circ}\text{C}}$ (s)	z ($^{\circ}\text{C}$)	β	$D'_{80^{\circ}\text{C}}$ (s)	z ($^{\circ}\text{C}$)	β
Valor ajustado	124	16,3	0,50	56	7,9	0,46
Média - <i>Jackknife</i>	114	16,4	0,50	54	8,0	0,45
Média - <i>Bootstrap</i>	111	16,7	0,56	56	7,6	0,45
Desvio - matriz <i>Cov</i>	26	2,3	0,08	10	1,1	0,07
Desvio - <i>Jackknife</i>	33	2,4	0,10	14	1,5	0,10
Desvio - <i>Bootstrap</i>	19	1,7	0,09	15	1,8	0,13

Fonte: o próprio autor (2020)

A Figura 5.16 representa as distribuições aproximadas dos parâmetros obtidas com o *bootstrap* suavizado para o modelo de Weibull, para o aquecimento convencional e por micro-ondas. As distribuições dos parâmetros D' e z para a inativação da PPO por aquecimento convencional e por micro-ondas não se sobrepõem. Mais do que comparar valores individuais (entre as Tabelas 5.2 e 5.3, por exemplo), a comparação de tais distribuições é uma maneira visual de avaliar a incerteza apresentada na Tabela 5.10 e verificar se processamentos distintos levaram a estimativas diferentes.

Observa-se por inspeção visual da Figura 5.16 que os parâmetros do modelo de Weibull apresentam distribuição aparentemente simétrica e normal. No entanto, testes de normalidade a um nível de confiança de 90% indicam que as populações estimadas dos parâmetros não apresentam distribuição normal. De fato, usando as médias e os desvios da Tabela 5.10 para graficar uma curva gaussiana, observa-se que os parâmetros D' e z se afastam da normalidade. Isso era esperado, pois modelos não-lineares nos parâmetros, como os modelos cinéticos estudados neste trabalho, não apresentam parâmetros de distribuição normal. No entanto, relatar intervalos de confiança simétricos baseados em uma distribuição normal para estimativas de parâmetros é uma prática comum, e a hipótese de que os parâmetros apresentam distribuição normal raramente é verificada.

Figura 5.16: Histogramas das estimativas dos parâmetros do modelo de Weibull para inativação da PPO em água de coco por aquecimento convencional (preto) e por micro-ondas (cinza), e comparação com distribuição normal ajustada



Fonte: o próprio autor (2020)

A Tabela 5.11 apresenta os valores médios e os desvios estimados dos parâmetros do modelo de Weibull para a inativação da PE por aquecimento convencional e ôhmico. Os valores ajustados são os relatados nas Tabelas 5.7 e 5.8. Observa-se que as médias das distribuições estimadas são semelhantes aos valores ajustados. Com

relação aos desvios-padrão, observa-se novamente na Tabela 5.11 que eles dependem da metodologia empregada para propagação da incerteza experimental. Os maiores desvios foram os estimados pelo *jackknife*, e os menores pelo *bootstrap*.

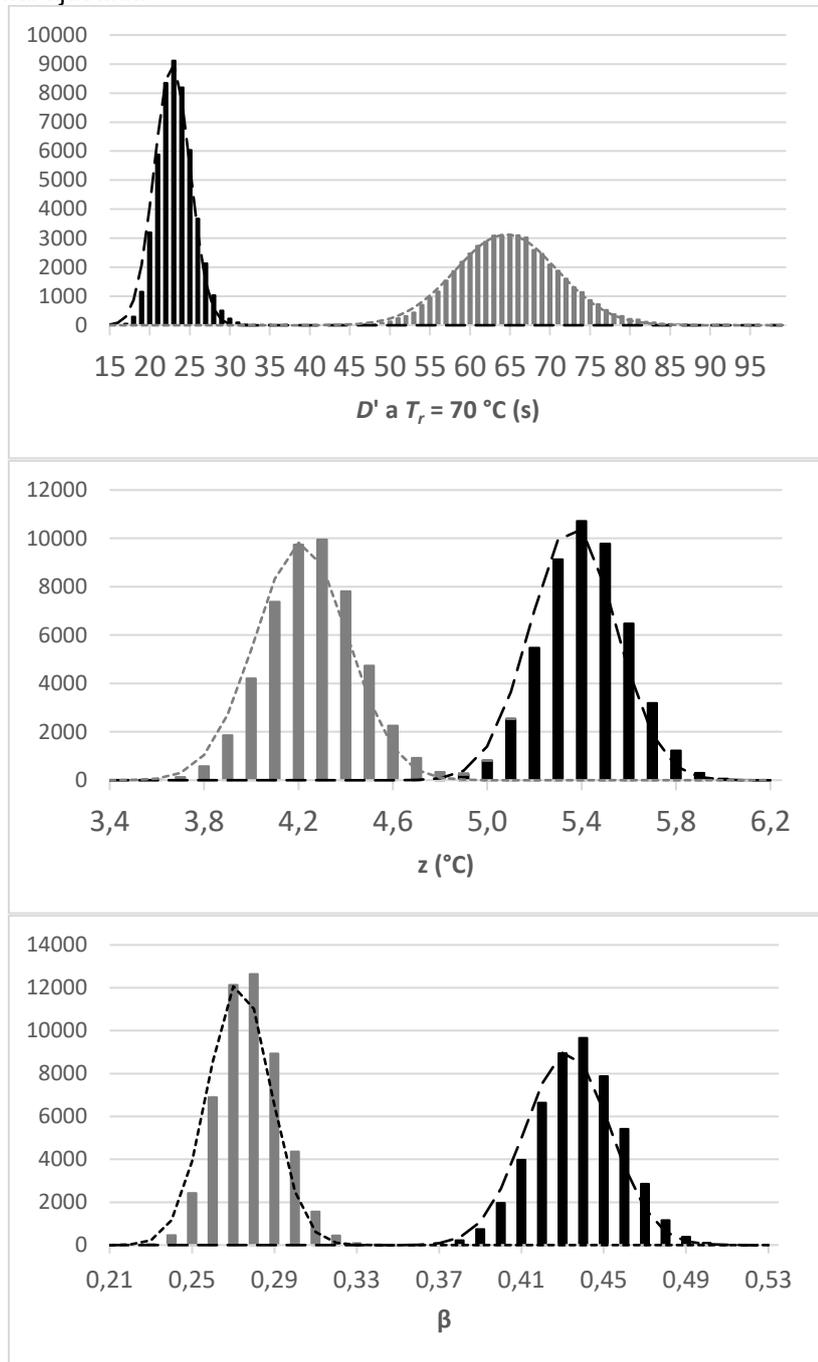
Tabela 5.11: Médias e desvios-padrão para os parâmetros do modelo de Weibull para inativação da PE por aquecimento convencional e ôhmico

	Aq. convencional			Aq. ôhmico		
	$D'_{70^{\circ}\text{C}}$ (s)	z ($^{\circ}\text{C}$)	β	$D'_{70^{\circ}\text{C}}$ (s)	z ($^{\circ}\text{C}$)	β
Valor ajustado	23	5,4	0,43	64	4,2	0,27
Média - <i>Jackknife</i>	20	5,2	0,43	41	4,0	0,27
Média - <i>Bootstrap</i>	23	5,4	0,43	65	4,2	0,27
Desvio - matriz <i>Cov</i>	3	0,4	0,03	17	0,6	0,04
Desvio - <i>Jackknife</i>	5	0,4	0,04	46	1,0	0,07
Desvio - <i>Bootstrap</i>	2	0,2	0,02	6	0,2	0,02

Fonte: o próprio autor (2020)

A Figura 5.17 representa as distribuições aproximadas dos parâmetros obtidas com o *bootstrap* suavizado para o modelo de Weibull, para o aquecimento convencional e por ôhmico. As distribuições dos parâmetros para a inativação da PE por aquecimento convencional e ôhmico não se sobrepõem, e aparentam ser simétricas e normais. No entanto, testes estatísticos a um nível de confiança de 90% indicam que essas populações não são normais. Novamente, para verificar se tratamentos distintos levaram a estimativas diferentes, esta comparação visual de distribuições para avaliação da propagação da incerteza experimental é uma forma mais adequada do que comparar valores individuais ou intervalos de confiança simétricos assumindo normalidade.

Figura 5.17: Histogramas das estimativas dos parâmetros do modelo de Weibull para inativação da PE em suco de laranja por aquecimento convencional (preto) e ôhmico (cinza), e comparação com distribuição normal ajustada

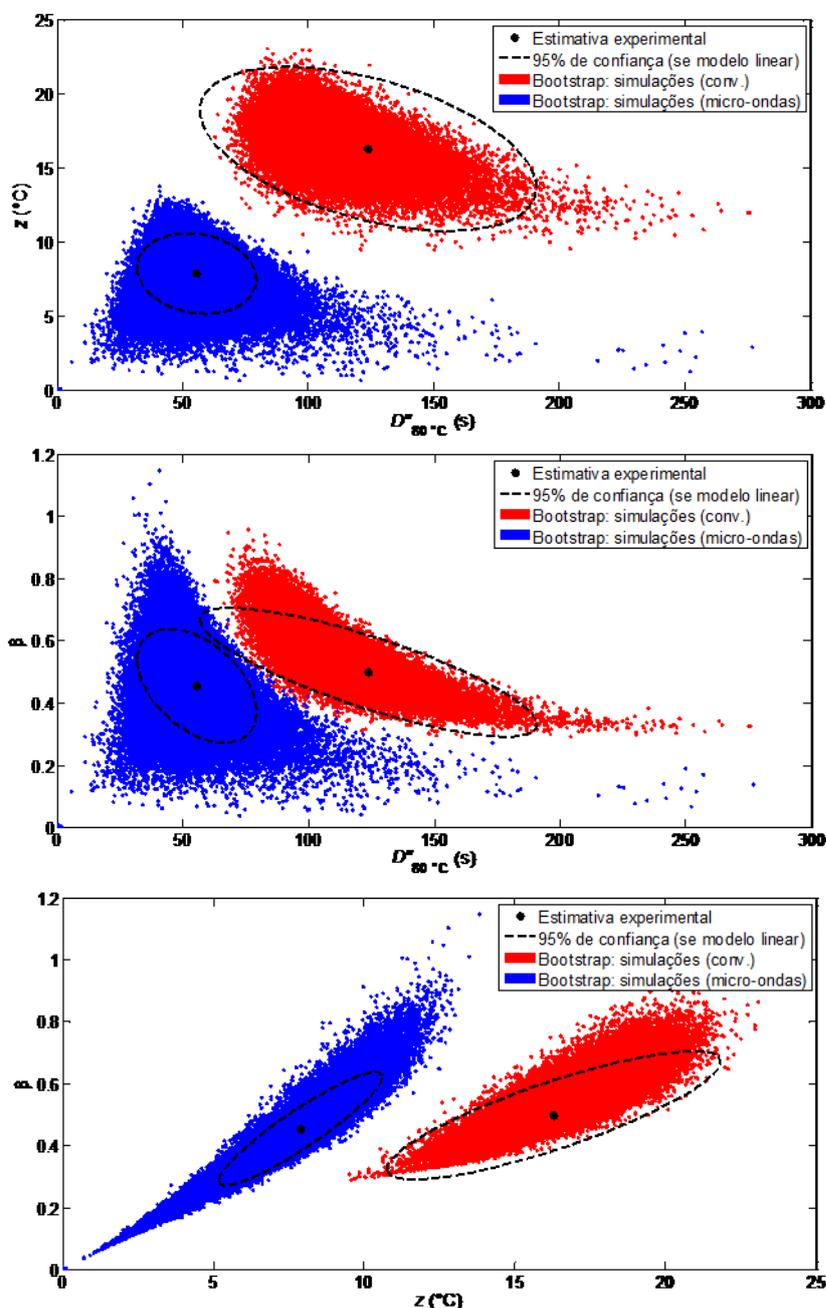


Fonte: o próprio autor (2020)

Se um modelo possui mais de um parâmetro, relatar intervalos de confiança individuais pode não ser uma medida acurada da incerteza devido à correlação entre os parâmetros. Nesse caso, devemos graficar os valores esperados dos parâmetros em função um do outro. A Figura 5.18 mostra as populações dos parâmetros para inativação da PPO estimadas pelo *bootstrap*, para os aquecimentos convencional e

por micro-ondas. Os histogramas da Figura 5.16 correspondem a uma projeção das regiões da Figura 5.18 sobre um dos eixos. Novamente, pode-se dizer que os parâmetros do modelo cinético de Weibull dependeram do método de aquecimento, uma vez que essas populações não se sobrepõem. Cabe destacar o caso do parâmetro β - na Figura 5.16, as distribuições se sobrepunham; já na Figura 5.18 observamos que as distribuições conjuntas são na verdade distintas.

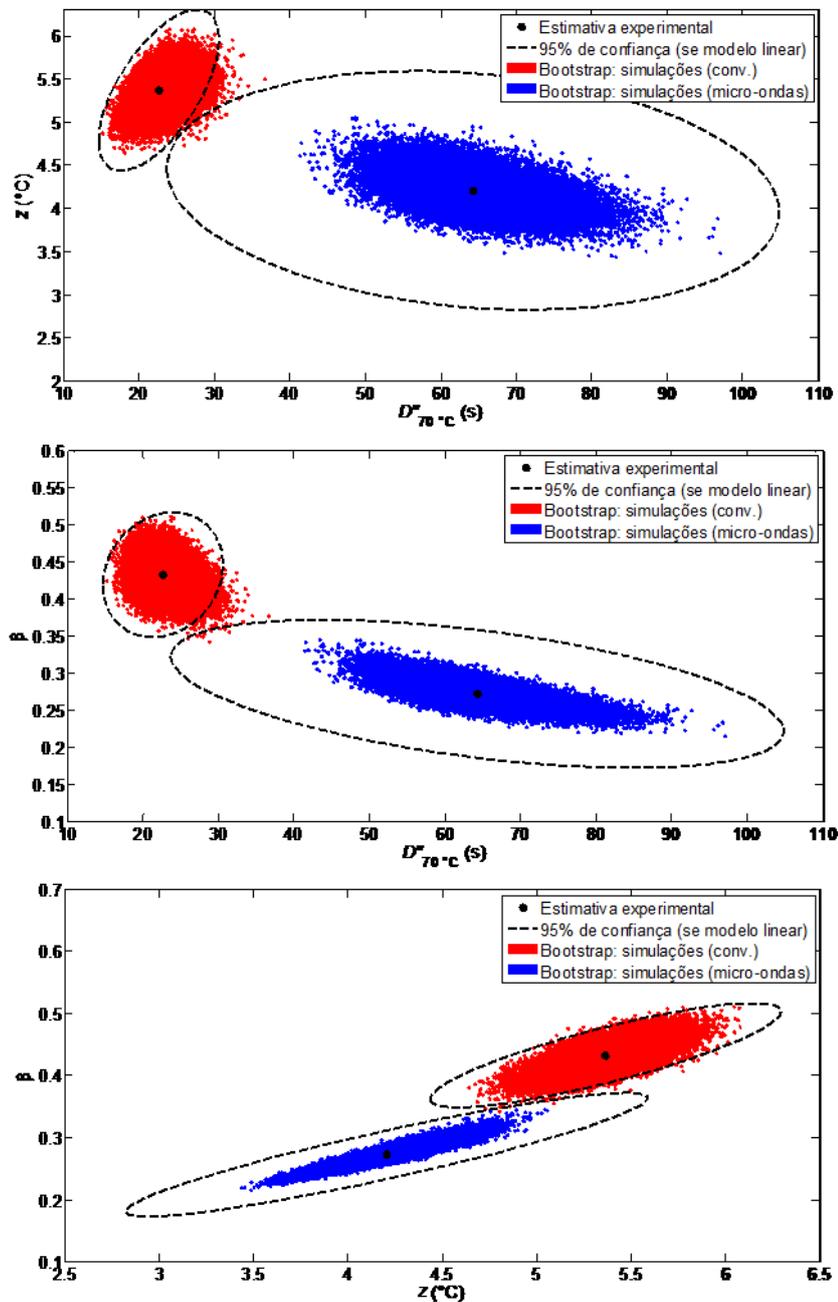
Figura 5.18: Distribuições conjuntas e regiões de confiança das estimativas dos parâmetros do modelo de Weibull para inativação da PPO em água de coco por aquecimento convencional e por micro-ondas



Fonte: o próprio autor (2020)

A Figura 5.19 mostra as populações dos parâmetros para inativação da PE estimadas pelo *bootstrap*, para os aquecimentos convencional e ôhmico. Os histogramas da Figura 5.17 correspondem a uma projeção das regiões da Figura 5.19 sobre um dos eixos. Como foi anteriormente observado para a PPO, os parâmetros do modelo cinético de Weibull dependeram do método de aquecimento, uma vez que as populações estimadas dos parâmetros não se sobrepõem.

Figura 5.19: Distribuições conjuntas e regiões de confiança das estimativas dos parâmetros do modelo de Weibull para inativação da PE em suco de laranja por aquecimento convencional e ôhmico



Fonte: o próprio autor (2020)

As linhas pontilhadas nas Figuras 5.18 e 5.19 indicam a região conjunta de confiança a um nível de 95% que seria esperada caso o modelo fosse linear nos parâmetros, estimada a partir da matriz de covariância da eq.(3.25). Observa-se na Figura 5.18 que essas regiões subestimam a dispersão das estimativas dos parâmetros, e não se aproximam do formato das populações conjuntas – em particular para o aquecimento por micro-ondas. Já na Figura 5.19, as elipses indicando as regiões conjuntas de confiança representam adequadamente as populações estimadas pelo *bootstrap*. Isso pode se dever ao menor desvio experimental associado às leituras da atividade da PE (Tabela A.4) em comparação ao das leituras da atividade da PPO (Tabelas A.1 e A.2).

6 CONCLUSÕES

A caracterização da água de coco verde e do suco de laranja indicou que os lotes de produto estudados apresentaram propriedades em conformidade com as descritas na literatura.

Os pequenos volumes de amostra e a agitação durante o tratamento foram importantes para assumir a hipótese de temperatura uniforme. A medição da temperatura com sensor com baixo tempo de resposta inserido na amostra possibilitou a aquisição de dados de todo o histórico tempo-temperatura e a adequação desses históricos entre os métodos de aquecimento, permitindo comparação.

As ferramentas matemáticas utilizadas para avaliar o ajuste dos modelos cinéticos permitiram comparar a adequação dos modelos aos dados experimentais. O modelo de Weibull apresentou ajuste mais satisfatório que o tradicional modelo de primeira ordem para ambos os aquecimentos convencional, ôhmico e por micro-ondas para as enzimas PPO e PE. O modelo de duas frações é comumente utilizado para descrever desvios do modelo de primeira ordem. No entanto, o modelo de Weibull apresentou desempenho semelhante ou melhor ao descrever a inativação térmica da PPO, quando comparado ao modelo de duas frações. O modelo de Weibull também apresentou menos problemas de convergência e menor tempo de processamento, por ter menos parâmetros que o modelo de duas frações.

A integração de todo o histórico tempo-temperatura incluiu no cálculo da letalidade as contribuições das seções de aquecimento e resfriamento, sem a hipótese simplificadora de mudanças instantâneas de temperatura. A validação dos modelos a taxas lentas de aquecimento permitiu avaliar o modelo de Weibull, que é capaz de descrever a inativação enzimática da PPO em água de coco a taxas diferentes.

Os modelos cinéticos ajustados para a inativação da PPO em água de coco indicam que há efeitos específicos das micro-ondas. Tais efeitos dependem aparentemente da temperatura de processo, ou talvez da potência incidente. Verificou-se que o aquecimento convencional é menos eficaz que o por micro-ondas nas temperaturas de processo entre 75 °C e 90 °C, faixas usadas na pasteurização de água de coco na indústria. Se as previsões dos modelos forem confirmadas em ampliação de escala

para processamento piloto contínuo, a aplicação dessa tecnologia oferece potencial à industrialização de água de coco.

Os modelos cinéticos ajustados para a inativação da PE em suco de laranja indicam que há efeitos específicos do campo elétrico. Na menor intensidade do processo de calor (60 °C), a inativação da pectinesterase foi maior no aquecimento ôhmico, mostrando condições em que o efeito do campo elétrico foi significativo. Em tempos e temperaturas de processamento mais altos, a desnaturação térmica supera esses efeitos – isso se refere às contribuições opostas dos movimentos moleculares oscilatórios e aleatórios com a temperatura.

Devido à sobreativação da atividade da POD em água de coco após o tratamento, nenhum dos modelos estudados descreveu adequadamente sua inativação. A recuperação de atividade da POD é conhecida na literatura e dificulta seu uso como indicadora da eficácia de tratamentos térmicos.

A estimativa da incerteza nas previsões do modelo, a partir do desvio-padrão dos parâmetros, permite comparar métodos de aquecimento e aprimorar a segurança e qualidade no processamento de alimentos. O método de reamostragem de Monte Carlo de *bootstrap* suavizado, apesar de requerer intenso esforço computacional, permite propagar a incerteza na medida experimental para os parâmetros, e também estima visualmente a distribuição dos parâmetros.

Parâmetros cinéticos que variam com a tecnologia de aquecimento são evidências de que campos elétricos influenciam a inativação de enzimas. Isso tem implicações na segurança e no *design* de processos alimentares e destaca a importância de encontrar mecanismos e avaliar os efeitos de tecnologias alternativas em diferentes alvos e indicadores de processos.

Estudos de vida de prateleira, avaliações da eficiência econômica e ambiental dos processos e análises da perda de características deverão ser conduzidos por estudos futuros visando à determinação de condições ideais de processamento com manutenção de atributos de qualidade.

REFERÊNCIAS⁵

ABREU, F. A. P. de. **Comunicado Técnico nº 34: Extrator de água-de-coco verde**. Fortaleza: EMBRAPA – CNPAT, 1999. 5 p.

ABREU, L. F.; FARIA, J. de A. F. Temperature and ascorbic acid effects in physico-chemical stability and enzymatic activity of coconut water (*Cocos nucifera L.*) aseptic filled. **Food Science and Technology (Campinas)**, v. 27, n. 2, p. 226-232, 2007.

ACHIR, N.; DHUIQUE-MAYER, C.; HADJAL, T.; MADANI, K.; PAIN, J.; DORNIER, M. Pasteurization of citrus juices with ohmic heating to preserve the carotenoid profile. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 33, p. 397-404, 2016.

AGHAJANZADEH, S.; ZIAIIFAR, A. M. A review of pectin methylesterase inactivation in citrus juice during pasteurization. **Trends in Food Science & Technology**, v. 71, p. 1-12, 2018.

AGUIAR, H. de F.; YAMASHITA, A. S.; GUT, J. A. W. Development of enzymic time-temperature integrators with rapid detection for evaluation of continuous HTST pasteurization processes. **Lebensmittel-Wissenschaft+Technologie / Food Science and Technology**, v. 47, n. 1, p. 110-116, 2012.

ANANTHESWARAN, R. C.; RAMASWAMY, C. A. Bacterial Destruction and Enzyme Inactivation During Microwave Heating. In: DATTA, A. K.; RAMASWAMY, C. A. (Ed.) **Handbook of Microwave Technology for Food Applications**. Nova York: Marcel Dekker Inc., 2001. Cap. 6, p. 191-210.

APPAIAH, P.; SUNIL, L.; KUMAR, P. K. P.; KRISHNA, A. G. G. Physico-chemical characteristics and stability aspects of coconut water and kernel at different stages of maturity. **Journal of Food Science & Technology**, v. 52, n. 8, p. 5196-5203, 2014.

ARAGÃO, W. M.; ISBERNER, I. V.; CRUZ, E. M. de O. **Água-de-coco**. Aracajú: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2001. 32 p.

ARJMANDI, M.; OTÓN, M.; ARTÉS, F.; ARTÉS-HERNÁNDEZ, F.; GÓMEZ, P. A.; AGUAYO, E. Microwave flow and conventional heating effects on the physicochemical properties, bioactive compounds and enzymatic activity of tomato puree. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 97, n. 3, p. 984-990, 2016.

ATUONWU, J. C.; LEADLEY, C.; BOSMAN, A.; TASSOU, S. A. High-pressure processing, microwave, ohmic, and conventional thermal pasteurization: Quality aspects and energy economics. **Journal of Food Process Engineering**, v. 43, n. 2, p. e13328, 2019.

⁵ De acordo com as Diretrizes para Apresentação de Dissertações e Teses da USP: parte I (ABNT), 3a ed., 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.11606/9788573140606>>. Acesso em: 13 de fevereiro de 2020.

AUGUSTO, P. E. D.; IBARZ, R.; GARVÍN, A.; IBARZ, A. Peroxidase (POD) and polyphenol oxidase (PPO) photo-inactivation in a coconut water model solution using ultraviolet (UV). **Food Research International**, v. 74, p. 151-159, 2015.

AWUAH, G. B.; RAMASWAMY, H.S.; ECONOMIDES, A. Thermal processing and quality: principles and overview. **Chemical Engineering and Processing**, v. 6, n. 6, p. 584-602, 2007.

BALABAN, M. O.; ARREOLA, A. G.; MARSHALL, M.; PELOW, A.; WEI, C. I.; CORNELL, J. Inactivation of pectinesterase in orange juice by supercritical carbon dioxide. **Journal of Food Science**, v. 56, n. 3, p. 743-746, 1991.

BARSA, C. S.; NORMAND, M. D.; PELEG, M. On Models of the Temperature Effect on the Rate of Chemical Reactions and Biological Processes in Foods. **Food Engineering Reviews**, v. 4, n. 4, p. 191-202, 2012.

BASAK, S.; RAMASWAMY, H. S. Ultra high pressure treatment of orange juice: a kinetic study on inactivation of pectin methyl esterase. **Food Research International**, v. 29, n. 7, p. 601-607, 1996.

BATES, D. M.; WATTS, D. G. **Nonlinear Regression Analysis and its Applications**. Nova York: John Wiley & Sons, 1988. 365 p.

BATES, R. P.; MORRIS, J. R.; CRANDALL, P. G. **Principles and Practices of small- and medium-scale fruit juice processing**. Boletim 146. Roma: Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura, 2001. 226 p. Disponível em: <<http://www.fao.org/docrep/005/y2515e/y2515e00.htm>>.

BÉCHET, Q.; LAVIALE, M.; ARSAPIN, N.; BONNEFORD, H.; BERNARD, O. Modeling the impact of high temperatures on microalgal viability and photosynthetic activity. **Biotechnology for Biofuels**, v. 10, n. 136, p. 1-11, 2017.

BENEN, J. A. E.; VAN ALEBEEK, G. W. M.; VORAGEN, A. G. J. Pectic Esterases. In: WHITAKER, J. R.; VORAGEN, A. G. J.; WONG, D. W. S. (Ed.) **Handbook of Food Enzymology**. Nova York: Marcel Dekker Inc., 2003. Cap. 68, p. 829-834.

BENLLOCH-TINOCO, M.; PINA-PÉREZ, M. C.; MARTÍNEZ-NAVARRETE, N.; RODRIGO, D. *Listeria monocytogenes* inactivation kinetics under microwave and conventional thermal processing in a kiwifruit puree. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 22, p. 131-136, 2014a.

BENLLOCH-TINOCO, M.; IGUAL, M.; SALVADOR, A.; RODRIGO, D.; MARTÍNEZ-NAVARRETE, N. Quality and Acceptability of Microwave and Conventionally Pasteurised Kiwifruit Puree. **Food Bioprocess Technology**, v. 7, n. 11, p. 3282-3292, 2014b.

BENLLOCH-TINOCO, M.; MARTÍNEZ-NAVARRETE, N.; RODRIGO, D. Impact of temperature on lethality of kiwifruit puree pasteurization by thermal and microwave processing. **Food Control**, v. 35, n. 1, p. 22-25, 2014.

BERK, E. **Food Process Engineering and Technology**. San Diego: Academic Press, 2009. 605 p.

BHARDWAJ, R. L.; NANDAL, U.; PAL, A.; JAIN, S. Bioactive compounds and medicinal properties of fruit juices. **Fruits**, v. 69, n. 5, p. 391-412, 2014.

BHULLAR, M. S.; PATRAS, A.; KILANZO-NTHENGE, A.; POKHAREL, B.; YANNAM, S. K.; RAKARIYATHAM, K.; PAN, C.; XIAO, H.; SASGES, M. Microbial inactivation and cytotoxicity evaluation of UV irradiated coconut water in a novel continuous flow spiral reactor. **Food Research International**, v. 103, p. 59-67, 2018.

BIGELOW, W. D. The logarithmic nature of thermal death time curves. **Journal of Infectious Diseases**, v. 29, n. 5, p. 528-536, 1921.

BISCHOFF, F. The temperature coefficient for the denaturation of chorionic gonadotropin by urea. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 158, n. 1, p. 29-32, 1944.

BOX, G. E. P.; HUNTER, J. S.; HUNTER, W. G. **Statistics for Experimenters: Design, Innovation and Discovery**. 2 ed. Hoboken: John Wiley & Sons, 2005. 633 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n. 1, de 7 de janeiro de 2000. Aprova o regulamento técnico geral para fixação dos padrões de identidade e qualidade para polpa de fruta. **Diário Oficial da União**, Seção 1, p. 54, 10 de janeiro de 2000.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n. 27, de 22 de julho de 2009. Estabelece os procedimentos mínimos de controle higiênico-sanitário, padrões de identidade e características mínimas de qualidade gerais para a água de coco. **Diário Oficial da União**, Seção 1, p. 6-7, 23 de julho de 2009a.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n. 31, de 13 de agosto de 2009. Altera a Instrução Normativa n. 27, de 22 de julho de 2009. **Diário Oficial da União**, Seção 1, p. 32, 14 de agosto de 2009b.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto n. 6.871, de 4 de junho de 2009. Regulamenta a Lei n. 8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. **Diário Oficial da União**, Seção 1, p. 20-29, 5 de junho de 2009c.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução n. 8, de 6 de março de 2013. Dispõe sobre a aprovação de uso de aditivos alimentares para produtos de frutas e de vegetais e geleia de mocotó. **Diário Oficial da União**, Seção 1, p. 68-75, 8 de março de 2013.

BREVILLE. Sidnei, 2020. Disponível em: <<https://www.breville.com/us/en/products/juicers/bje200.html>>. Acesso em 02 de abril de 2020.

BRILLINGER, D. R. Discussion on Mr Sprent's paper. **Journal of the Royal Statistical Society**, série B 28, p. 294, 1966. Disponível em: <<https://www.stat.berkeley.edu/~brill/papers.html>>. Acesso em: 11 de maio de 2016.

BUZZI-FERRARIS, G. Statistical tests and confidence intervals. **Computers and Chemical Engineering**, v. 24, n. 8, p. 2037-2039, 2000.

CABRAL, L. M. C.; PENHA, E. das M.; MATTA, V. M. da. **Água de Coco Verde Refrigerada**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. 35 p.

CAMPANELLA, O. H.; PELEG, M. Theoretical comparison of a new and the traditional method to calculate *Clostridium botulinum* survival during thermal inactivation. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 81, n. 11, p. 1069-1076, 2001.

CAMPBELL-FALCK, D.; THOMAS, T.; FALCK, T. M.; TUTUO, N.; CLEM, K. The intravenous use of coconut water. **American Journal of Emergency Medicine**, v. 18, n. 1, p. 108-111, 2000.

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

CAPPELLETTI, M.; FERRENTINO, G.; SPILIMBERGO, S. Supercritical carbon dioxide combined with high power ultrasound: An effective method for the pasteurization of coconut water. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 92, p. 257-263, 2014.

CAPPELLETTI, M.; FERRENTINO, G.; ENDRIZZI, I.; APREA, E.; BETTA, E.; COROLLARO, M. L.; CHARLES, M.; GASPERI, F.; SPILIMBERGO, S. High Pressure Carbon Dioxide pasteurization of coconut water: A sport drink with high nutritional and sensory quality. **Journal of Food Engineering**, v. 145, p. 73-81, 2015.

CARVALHO, A. P. de; CARVALHO, L. P. de; CARVALHO, J. N. de. Caracterização Eletromagnética de Materiais da Construção Civil na Faixa de Microondas. In: **MOMAG**, 2016, Porto Alegre. 1 pen drive.

CARVALHO, J. M. de; MAIA, G. A.; SOUSA, P. H. M. de; MAIA JÚNIOR, G. A. Água-de-coco: Propriedades nutricionais, funcionais e processamento. **Semina: Ciências Agrárias, Londrina**, v. 27, n. 3, p. 437-452, 2006.

CASTALDO, D.; LOVOI, A.; QUAGLIUOLO, L.; SERVILLO, L.; BALESTRIERI, C.; GIOVANE, A. Orange juices and concentrates stabilization by a proteic inhibitor of pectin methylesterase. **Journal of Food Science**, v. 56, n. 6, p. 1632-1634, 1991.

CASTRO, I.; MACEDO, B.; TEIXEIRA, J. A.; VICENTE, A. A. The effect of electric field on important food-processing enzymes: comparison of inactivation kinetics under conventional and ohmic heating. **Journal of Food Science**, v. 69, n. 9, p. C696-C701, 2004.

CEM CORPORATION. **DISCOVER SP**: Microwave Synthesis Technology. Material promocional de divulgação. Matthews: CEM Corporation, 2012. 8 p. Disponível em: <<http://www.cem.com/discover-sp-resource-library.html>>. Acesso em: 2 de junho de 2016.

CHAMARRO, J.; ALONSO, J. M.; GARCIA-MARTINEZ, J. L. Enzymes in Citrus Fruits. In: NAGODAWITHANA, T.; REED, G. (Ed.) **Enzymes in Food Processing**. 3 ed. San Diego: Academic Press, 1993. Cap. 16, p. 599-620.

CHANDRASEKARAN, S.; RAMANATHAN, S.; BASAK, T. Microwave food processing – A review. **Food Research International**, v. 52, n. 1, p. 243-251, 2013.

CHASE, A. M. Studies on cell enzymes. IV. The Kinetics of Heat Inactivation on Cypridina Luciferase. **Journal of General Physiology**, v. 33, n. 5, p. 535-546, 1950.

CHEN, C. Ohmic Heating. In: BHATTACHARYA, S. (Ed.) **Conventional and Advanced Food Processing Technologies**. Nova York: John Wiley & Sons, 2015. Cap. 27, p. 673-686.

CHEN, C. S.; WU, M. C. Kinetic models for thermal inactivation of multiple pectinesterases in citrus juices. **Journal of Food Science**, v. 63, n. 5, p. 1998.

CHEN, G.; CAMPANELLA, O. H.; CORVALAN, C. M. A numerical algorithm for calculating microbial survival curves during thermal processing. **Food Research International**, v. 40, n. 1, p. 203-208, 2007.

CHICK, H. An investigation of the laws of disinfection. **The Journal of Hygiene**, v. 8, n. 1, p. 92-158, 1908.

CHO, W.; KIM, E.; HWANG, H.; CHA, Y.; CHEON, H. S.; CHOI, J.; CHUNG, M. Continuous ohmic heating system for the pasteurization of fermented red pepper paste. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 42, p. 190-196, 2017.

CHOWDHURY, M. M., AZIZ, M. G., UDDIN, M. B. Development of shelf-stable ready-to-serve green coconut water. **Biotechnology**, v. 4, n. 2, p. 121-125, 2005.

CINQUANTA, L.; ALBANESE, D.; CUCCURULLO, G.; MATTEO, M. di. Effect on Orange juice of batch pasteurization in an improved pilot-scale microwave oven. **Journal of Food Science**, v. 75, n. 1, p. E46-E50, 2010.

CITRUSBR. Associação Nacional dos Exportadores de Sucos Cítricos. São Paulo, 2020. Disponível em: <<http://www.citrusbr.com>>. Acesso em 04 de fevereiro de 2020.

CLAEYS, W. L.; VAN LOEY, A. M.; HENDRICKX, M. E. Influence of seasonal variation on kinetics of time temperature integrators for thermally processed milk. **Journal of Dairy Research**, v. 70, n. 2, p. 217-225, 2003.

COCO FÁCIL. Teófilo Otoni, 2020. Disponível em :<<https://cocofacil.com/produto/coco-facil-4-x-1-com-cavalete-ferroinox/>>. Acesso em 02 de abril de 2020.

CORONEL, P.; SIMUNOVIC, J.; SANDEEP, K. P. Temperature Profiles Within Milk After Heating in a Continuous-flow Tubular Microwave System Operating at 915 MHz. **Journal of Food Science**, v. 68, n. 6, p. 1976-2003, 2003.

CORONEL, P.; TRUONG, V.; SIMUNOVIC, J.; SANDEEP, K. P.; CARTWRIGHT, G. D. Aseptic Processing of Sweetpotato Purees Using a Continuous Flow Microwave System. **Journal of Food Science**, v. 70, n. 9, p. E531-E536, 2005.

CORRADINI, M. G.; PELEG, M. A Weibullian model for microbial injury and mortality. **International Journal of Food Microbiology**, v. 119, n. 3, p. 319-328, 2007.

CORRADINI, M. G.; PELEG, M. Dynamic Model of Heat Inactivation for Bacterial Adaptation. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 75, n. 8, p. 2590-2597, 2009.

COSTA, L. M. C.; MAIA, G. A.; COSTA, J. M. C. da; FIGUEIREDO, R. W. de; SOUSA, P. H. M. de. Avaliação de água-de-coco obtida por diferentes métodos de conservação. **Ciência e agrotecnologia, Lavras**, v. 29, n. 6, p. 1239-1247, 2005.

COUVERT, O.; GAILLARD, S.; SAVY, N.; MAFART, P.; LEGUÉRINEL, I. Survival curves of heated bacterial spores: effect of environmental factors on Weibull parameters. **International Journal of Food Microbiology**, v. 101, n. 1, p. 73-81, 2005.

CRIADO, M. N.; CIVERA, M.; MARTÍNEZ, A.; RODRIGO, D. Use of Weibull distribution to quantify the antioxidant effect of *Stevia rebaudiana* on oxidative enzymes. **Lebensmittel-Wissenschaft+Technologie / Food Science and Technology**, v. 60, n. 2, p. 985-989, 2015.

CRUESS, W. V. **Utilization of waste oranges**. California Agricultural Experiment Station. Boletim n. 244, p. 155-170. Berkeley: University of California Press, 1914.

DALVI, E. A.; BERGER, L. **Máquina de extração de água de coco**. BR PI 0006357-6 A2, 25 de junho de 2002.

DATTA, A. K. Fundamentals of Heat and Moisture Transport for Microwaveable Food Product and Process Design. In: DATTA, A. K.; RAMASWAMY, C. A. (Ed.) **Handbook of Microwave Technology for Food Applications**. Nova York: Marcel Dekker Inc., 2001. Cap. 4, p. 115-166.

DELFIYA, D. S. A.; THANGAVEL, K. Effect of ohmic heating on polyphenol oxidase activity, electrical and physicochemical properties of fresh tender coconut water. **International Journal of Food Engineering**, v. 12, n. 7, p. 691-700, 2016.

DEMIRDÖVEN, A.; BAYSAL, T. Effects of electrical pre-treatment and alternative heat treatment applications on orange juice production and storage. **Food and Bioproducts Processing**, v. 94, p. 443-452, 2015.

DÍAZ-ORTÍZ, A.; HOZ, A. de la; ALCÁZAR, J.; CARRILLO, J. R.; HERRERO, M. A.; MUÑOZ, J. de M. Reproducibility and Scalability of Microwave-Assisted Reactions. In: CHANDRA, U. (Ed.) **Microwave Heating**. Viena: InTech, 2011. Cap. 7, p. 137-157. Disponível em: <<http://www.intechopen.com/books/microwave-heating>>.

DRAPER, N. R.; SMITH, H. **Applied Regression Analysis**. Nova York: John Wiley & Sons, 1981. 709 p.

DUARTE, A. C. P.; COELHO, M. A. Z.; LEITE, S. G. F. Identification of peroxidase and tyrosinase in green coconut water. **Ciencia y Tecnología Alimentaria**, v. 3, n. 5, p. 266-270, 2002.

EAGERMAN, B. A.; ROUSE, A. H. Heat inactivation temperature-time relationships for pectinesterase inactivation in citrus juices. **Journal of Food Science**, v. 41, n. 6, p. 1396-1397, 1976.

ELEZ-MARTÍNEZ, P.; SUÁREZ-RECIO, M.; MARTÍN-BELLOSO, O. Modeling the reduction of pectin methyl esterase activity in orange juice by high intensity pulsed electric fields. **Journal of Food Engineering**, v. 78, n. 1, p. 184-193, 2007.

ERKMEN, O.; BARAZI, A. Ö. Kinetics of Microbial Inactivation. In: SUN, D. (Ed.) **Handbook of Food Safety Engineering**. Ames: Blackwell Publishing, 2012. Cap. 5, p. 92-105.

ESKIN, M. **Biochemistry of Foods**. 2 ed. San Diego: Academic Press, 1990. 557 p.

ESTADOS UNIDOS DA AMÉRICA. Food and Drug Administration. **Kinetics of Microbial Inactivation for Alternative Food Processing Technologies**. 2020. Disponível em: <<https://www.fda.gov/media/103619/download>>. Acesso em: 04 de fevereiro de 2020.

EVANS, R.; MCHALE, D. Multiple forms of pectinesterase in limes and oranges. **Phytochemistry**, v. 17, n. 7, p. 1073-1075, 1977.

FALGUERA, V.; GATIUS, F.; IBARZ, A.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V. Kinetic and multivariate analysis of PPO inactivation by high pressure and temperature processing in apple juices made from six different varieties. **Food and Bioprocess Technology**, v. 6, n. 9, p. 2342-2352, 2013a.

FALGUERA, V.; MOULIN, A. THEVENET, L.; IBARZ, A. Inactivation of Peroxidase by Ultraviolet-Visible Irradiation: Effect of pH and Melanoidin Content. **Food and Bioprocess Technology**, v. 6, n. 12, p. 3627-3633, 2013b.

FARAHNAKY, A.; KAMALI, E.; GOLMANAKI, M. T.; GAVAHIAN, M.; MESBAHI, G.; MAJZOBI, M. Effect of ohmic and microwave cooking on some bioactive compounds

of kohlrabi, turnip, potato, and radish. **Journal of Food Measurement and Characterization**, v. 12, p. 2561-2569, 2018.

FEARN, T. Bayesian statistics and the agro-food production chain. In: VAN BOEKEL, M. A. J. S.; STEIN, A.; VAN BRUGGEN, A. H. C. (Ed.) **Bayesian Statistics and Quality Modeling in the Agro-Food Production Chain**. Dordrecht: Kluwer Academic Press, 2004. Cap. 1, p. 11-15.

FELLOWS, P. J. **Food processing technology: Principles and practice**. 3 ed. Boca Raton: CRC Press, 2009. 913 p.

FISHMAN, G. S. Introduction. In: FISHMAN, G. S. **Monte Carlo: concepts, algorithms, and applications**. Nova York: Springer-Verlag, Inc., 1996. Cap. 1, p. 1-11.

FLEMING, H. Effect of High-Frequency Fields on Micro-Organisms. **Electrical Engineering**, v. 63, p. 18-21, 1944.

FONTAN, R. da C. I.; ALCÂNTARA, L. A. P.; LAJE NETO, S. C. A.; BONOMO, R. C. F.; FONTAN, G. C. R. Cinética de inativação da peroxidase em água de coco. **Semina: Ciências Agrárias, Londrina**, v. 33, n. 1, p. 249-258, 2012.

FONTAN, R. da C. I.; SANTOS, L. S.; BONOMO, R. C. F.; LEMOS, A. R.; RIBEIRO, R. P.; VELOSO, C. M. Thermophysical properties of coconut water affected by temperature. **Journal of Food Process Engineering**, v. 32, n. 3, p. 382-397, 2009.

FRANCO, A. P.; TADINI, C. C.; GUT, J. A. W. Predicting the dielectric behavior of orange and other citrus fruit juices at 915 and 2450 MHz. **International Journal of Food Properties**, v. 20, n. S2, p. S1468-S1488, 2017.

FRANCO, A. P.; YAMAMOTO, L. Y.; TADINI, C. C.; GUT, J. A. W. Dielectric properties of green coconut water relevant to microwave processing: Effect of temperature and field frequency. **Journal of Food Engineering**, v. 155, p. 69-78, 2015.

FRATIANNI, A.; CINQUANTA, L.; PANFILI, G. Degradation of carotenoids in Orange juice during microwave heating. **Lebensmittel-Wissenschaft+Technologie / Food Science and Technology**, v. 43, n. 6, p. 867-871, 2010.

FRYER, P. J. Thermal treatment of foods. In: FRYER, P. J.; PYLE, D. L.; RIELLY, C. D. (Ed.) **Chemical Engineering for the Food Industry**. Londres: Blackie Academic & Professional, 1997. Cap. 9, p. 331-381.

FRYER, P. J.; PORRAS-PARRAL, G.; BAKALIS, S. Multiphysics Modeling of Ohmic Heating. In: KNOERZER, K.; JULIANO, P.; ROUPAS, P.; VERSTEEG, C. (Eds.) **Innovative Food Processing Technologies: Advances in Multiphysics Simulation**. Nova York: John Wiley & Sons, 2011. Cap. 8, p. 155-166.

FUJIKAWA, H.; ITOH, T. Characteristics of a multicomponent first-order model for thermal inactivation of microorganisms and enzymes. **International Journal of Food Microbiology**, v. 31, n. 1-3, p. 263-271, 1996.

GAMA, J. J. T.; SYLOS, C. M. de. Effect of thermal pasteurization and concentration on carotenoid composition of Brazilian Valencia orange juice. **Food Chemistry**, v. 100, n. 4, p. 1686-1690, 2007.

GAUTAM, D.; UMAGILIYAGE, A. L.; DHITAL, R.; JOSHI, P.; WATSON, D. G.; FISHER, D. J.; CHOUDHARY, R. Nonthermal pasteurization of tender coconut water using a continuous flow coiled UV reactor. **Food Research International**, v. 83, p. 127-131, 2017.

GIESE, J. Advances in microwave food processing. **Food Technology**, v. 46, n. 9, p. 118-123, 1992.

GINER-SEGUÍ, J.; ELEZ-MARTÍNEZ, P.; MARTÍN-BELLOSO, O. Modeling within the Bayesian framework the inactivation of pectinesterase in gazpacho by pulsed electric fields. **Journal of Food Engineering**, v. 95, n. 3, p. 446-452, 2009.

GONZALES-BARRON, U. A. Predictive Microbial Modelling. In: SUN, D. (Ed.) **Handbook of Food Safety Engineering**. Ames: Blackwell Publishing, 2012. Cap. 6, p. 108-140.

GUÉRIN, A.; DARGAIGNARATZ, C.; CLAVEL, T.; BROUSSOLLE, V.; NGUYEN-THE, C. Heat-resistance of psychrotolerant *Bacillus cereus* vegetative cells. **Food Microbiology**, v. 64, p. 195-201, 2017.

GUO, W.; LLAVE, Y.; JIN, Y.; FUKUOKA, M.; SAKAI, N. Mathematical modeling of ohmic heating of two-component foods with non-uniform electric properties at high frequencies. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 39, p. 63-78, 2017.

GUT, J. A. W. **Modelagem matemática e validação experimental da pasteurização de alimentos líquidos em trocadores de calor a placas**. 2012. 119 p. Tese (Livro-Docência) – Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012. Disponível em: <<https://teses.usp.br/teses/disponiveis/livredocencia/3/tde-18022013-101521/en.php>>.

HAHN, G. J.; SHAPIRO, S. S. **Statistical Models in Engineering**. Nova York: John Wiley & Sons, 1967. 365 p.

HALDER, A.; DATTA, A. K.; GEEDIPALLI, S. S. R. Uncertainty in Thermal Process Calculations due to Variability in First-Order and Weibull Kinetic Parameters. **Journal of Food Science**, v. 72, n. 4, p. E155-E167, 2007.

HAMMER, F. E. Oxidoreductases. In: NAGODAWITHANA, T.; REED, G. (Ed.) **Enzymes in Food Processing**. 3 ed. San Diego: Academic Press, 1993. Cap. 9, p. 221-243.

HARMLESS HARVEST. São Francisco, 2020. Disponível em: <<http://www.harmlessharvest.com>>. Acesso em: 04 de fevereiro de 2020.

HELDMAN, D. R.; NEWSOME, R. L. Kinetic models for microbial survival during processing. **Food Technology**, v. 57, n. 8, p. 40-46, 100, 2003.

HOZ, A. de la; DÍAZ-ORTÍZ, A.; MORENO, A. Review on Non-Thermal Effects of Microwave Irradiation in Organic Synthesis. **Journal of Microwave Power & Electromagnetic Energy**, v. 41, n. 1, p. 45-66, 2007.

IBARZ, A.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V. **Unit Operations in Food Engineering**. Boca Raton: CRC Press, 2002. 920 p.

INDÚSTRIA TECNINT DE EQUIPAMENTOS LTDA. Francisco Clodoaldo Andrade. **Equipamento automático e semi-automático para extração de água de coco verde e coco seco**. BR PI 0101403-0 A2, 18 de março de 2003.

INSTITUTE OF FOOD TECHNOLOGISTS. Science Reports: Research Summits. **Kinetic Models for Microbial Survival During Processing**. 2020. Disponível em: <<https://www.ift.org/news-and-publications/food-technology-magazine/issues/2003/august/features/kinetic-models-for-microbial-survival-during-processing>>. Acesso em: 04 de fevereiro de 2020.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análises de alimentos**. 4 ed. Coordenação de Odair Zenebon, Neus Sadocco Pascuet e Paulo Tiglea. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020 p.

INVO. Madri, 2018. Disponível em: <<http://invo.co.uk>>. Acesso em 30 de janeiro de 2018.

JACOB, J; CHIA, L. H. L.; BOEY, F. Y. C. Thermal and non-thermal interaction of microwave radiation with materials. **Journal of Materials Science**, v. 30, n. 21, p. 5321-5327, 1995.

JAEGER, H.; ROTH, A.; TOEPFL, S.; HOLZHAUSER, T.; ENGEL, K.; KNORR, D.; VOGEL, R. F.; BANDICK, N.; KULLING, S.; HEINZ, V.; STEINBERG, P. Opinion on the use of ohmic heating for the treatment of foods. **Trends in Food Science & Technology**, v. 55, p. 84-97, 2016.

JAESCHKE, D. P.; MARCZAK, L. D. F.; MERCALI, G. D. Evaluation of non-thermal effects of electricity on ascorbic acid and carotenoid degradation in acerola pulp during ohmic heating. **Food Chemistry**, v. 199, p. 128-134, 2016.

JAKÓB, A.; BRYJAK, J.; WÓJTOWICZ, H.; ILLEOVÁ, V.; ANNUS, J.; POLAKOVIČ, M. Inactivation kinetics of food enzymes during ohmic heating. **Food Chemistry**, v. 123, p. 369-376, 2010.

JERMANN, C.; KOUTCHMA, T.; MARGAS, E.; LEADLEY, C.; ROS-POLSKI, V. Mapping trends in novel and emerging food processing technologies around the world. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 31, p. 14-27, 2015.

JOLIE, R. P.; DUVETTER, T.; VAN LOEY, A. M.; HENDRICKX, M. E. Pectin methylesterase and its proteinaceous inhibitor: a review. **Carbohydrate Research**, v. 345, n. 18, p. 2583-2595, 2010.

KAMONPATANA, P.; MOHAMED, H. M. H.; SHYNKARYK, M.; HESKITT, B.; YOUSEF, A. E.; SASTRY, S. K. Mathematical modeling and microbiological verification of ohmic heating of a solid-liquid mixture in a continuous flow ohmic heater system with electric field parallel to flow. **Journal of Food Science**, v. 78, n. 11, p. E1721-E1734, 2013a.

KAMONPATANA, P.; MOHAMED, H. M. H.; SHYNKARYK, M.; HESKITT, B.; YOUSEF, A. E.; SASTRY, S. K. Mathematical modeling and microbiological verification of ohmic heating of a solid-liquid mixture in a continuous flow ohmic heater system with electric field perpendicular to flow. **Journal of Food Engineering**, v. 118, n. 3, p. 312-325, 2013b.

KAPPE, C. O. How to measure reaction temperature in microwave-heated transformations. **Chemical Society Reviews**, v. 42, n. 12, p. 4977-4990, 2013.

KAPPE, C. O.; PIEBER, B.; DALLINGER, D. Microwave Effects in Organic Synthesis: Myth or Reality? **Angewadte Chemie International Edition**, v. 52, n. 4, p. 1088-1094, 2013.

KAPPE, C. O.; DALLINGER, D. The impact of microwave synthesis on drug discovery. **Nature Reviews**, v. 5, n. 1, p. 51-63, 2006.

KATSAROS, G. I.; TSEVDOS, M.; PANAGIOTOU, T.; TAOUKIS, P. S. Kinetic study of high pressure microbial and enzyme inactivation and selection of pasteurisation conditions for Valencia Orange Juice. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 2010, p. 1119-1129, 2010.

KAUR, N.; SINGH, A. K. Ohmic heating: concept and applications – a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 56, n.14, p. 2338-2351, 2016.

KIM, S.; KANG, D. Comparison of pH effects on ohmic heating and conventional heating for inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium, and *Listeria monocytogenes* in orange juice. **Lebensmittel-Wissenschaft+Technologie / Food Science and Technology**, v. 64, n. 2, p. 860-866, 2015.

KIM, S.; SUNG, H.; KWAK, H.; JOO, I.; LEE, J.; KO, G.; KANG, D. Effect of power levels on inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* Typhimurium, and *Listeria monocytogenes* in tomato paste using 915-megahertz microwave and ohmic heating. **Journal of Food Protection**, v. 79, n. 9, p. 1616-1622, 2016.

KNIRSCH, M. C.; SANTOS, C. A. dos; VICENTE, A. A. M. de O. S.; PENNA, T. C. V. Ohmic heating – a review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 21, n. 9, p. 436-441, 2010.

KOZEMPEL, M.; COOK, R. D.; SCULLEN, O. J.; ANNOUS, B. A. Development of a process for detecting nonthermal effects of microwave energy on microorganisms at low temperature. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 24, n. 4, p. 287-301, 2000.

KUBO, M. T. K.; SIGUEMOTO, É. S.; FUNCIA, E. dos S.; AUGUSTO, P. E. D.; CURET, S.; BOILLEREAUX, L.; SASTRY, S. K.; GUT, J. A. W. Non-thermal effects of microwave and ohmic processing on microbial and enzyme inactivation: a critical review. *Current Opinion in Foods Science*, v. 35, p. 36-48, 2020.

KUMAR, P.; CORONEL, P.; TRUONG, V. D.; SIMUNOVIC, J.; SWARTZEL, K. R.; SANDEEP, K. P.; CARTWRIGHT, G. Overcoming issues associated with the scale-up of a continuous flow microwave system for aseptic processing of vegetable purees. **Food Research International**, v. 41, n. 5, p. 454-461, 2008.

KWAK, S.; KIM, S.; LEE, M.; JUNG, K.; PARK, I.; LIU, J. Acidic peroxidases from suspension-cultures of sweet potato. **Phytochemistry**, v. 39, n. 5, p.981-984, 1995.

LABORATÓRIO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS. São Paulo, 2020. Disponível em: <<https://sites.usp.br/lea/>>. Acesso em: 02 de abril de 2020.

LANDAU, D. P.; BINDER, K. **A Guide to Monte-Carlo Simulations in Statistical Physics**. 3 ed. Cambridge: Cambridge University Press, 2009. 471 p.

LEWIS, M. J.; HEPPELL, N. J. **Continuous Thermal Processing of Foods: Pasteurization and UHT Sterilization**. Gaithersburg: Aspen Publishers, Inc., 2000. 447 p.

LIMA, J. O. A. de A. **A laranja e seus subprodutos na alimentação animal**. Aracajú: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2001. 50 p.

LING, B.; TANG, J.; KONG, F.; MITCHAM, E. J.; WANG, S. Kinetics of Food Quality Changes During Thermal Processing: a Review. **Food and Bioprocess Technology**, v. 8, n. 2, p. 343-358, 2015.

LIU, H.; ZHANG, L. Microwave heating in organic synthesis and drug discovery. In: CHANDRA, U. **Microwave Heating**. Viena: InTech, 2011. Cap. 16, p. 351-366. Disponível em: <<http://www.intechopen.com/books/microwave-heating>>.

LJUNG, L. **System Identification: Theory for the User**. 2 ed. Upper Saddle River: Prentice Hall PTR, 1999. 609 p.

LOEFFLER, H. J. Processing of orange juice. **Industrial and Engineering Chemistry**, v. 33, n. 10, p. 1308-1314, 1941.

LOESECKE, H. W. von; MOTTERN, H. H.; PULLEY, G. N. Preservation of orange juice by deaeration and flash pasteurization. **Industrial and Engineering Chemistry**, v. 26, n. 7, p. 771-773, 1934.

LOPES, H. F.; TOBIAS, J. L. Confronting Prior Convictions: On Issues of Prior Sensitivity and Likelihood Robustness in Bayesian Analysis. **Annual Review of Economics**, v. 3, p. 107-131, 2011. Disponível em: <<http://hedibert.org/wp-content/uploads/2013/12/lopes-tobias-2011.pdf>>. Acesso em: 12 de maio de 2016.

LOPES, L. C.; BARRETO, M. T. M.; GONÇALVES, K. M.; ALVAREZ, H. M.; HEREDIA, M. F.; SOUZA, R. O. M. A. de; CORDEIRO, Y.; DARIVA, C.; FRICKS, A. T. Stability and structural changes of horseradish peroxidase: Microwave versus conventional heating treatment. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 69, p. 10-18, 2015.

LUNDGREN, H. P.; WILLIAMS, J. W. Ultracentrifugal analysis and stability in protein systems. **Journal of Physical Chemistry**, v. 43, n. 8, p. 989-1002, 1939.

LUMRY, R.; EYRING, H. Conformation changes of proteins. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 58, n. 2, p. 110-120, 1954.

LUVIELMO, M. M.; VASCONCELOS, M. A. M.; MARQUES, G. R.; SILVA, R. P. G.; DAMÁSIO, M. H. Influência do processamento nas características sensoriais da água de coco. **Boletim CEPPA**, v. 22, n. 2, p. 253-270, 2004.

MA, H.; HUANG, L.; ZHU, C. The effect of pulsed magnetic field on horseradish peroxidase. **Journal of Food Process Engineering**, v. 34, n. 5, p. 1609-1622, 2009.

MAFART, P.; COUVERT, O.; GAILLARD, S.; LEGUERINEL, I. On calculating sterility in thermal preservation methods: application of the Weibull frequency distribution model. **International Journal of Food Microbiology**, v. 72, n. 1-2, p. 107-113, 2002.

MAGALHÃES, M. P.; GOMES, F. dos S.; MODESTA, R. C. D.; MATTA, V. M. da; CABRAL, L. M. C. Conservação de água de coco verde por filtração com membrana. **Food Science and Technology (Campinas)**, v. 25, n. 1, p. 72-77, 2005.

MAHNOT, N. K.; KALITA, D.; MAHANTA, C. L.; CHAUDHURI, M. K. Effect of additives on the quality of tender coconut water processed by nonthermal two stage microfiltration technique. **Lebensmittel-Wissenschaft+Technologie / Food Science and Technology**, v. 59, p. 1191-1195, 2014.

MAKROO, H. A.; RASTOGI, N. K.; SRIVASTAVA, B. Enzyme inactivation of tomato juice by ohmic heating and its effects on physico-chemical characteristics of concentrated tomato paste. **Journal of Food Process Engineering**, v. 40, n. 3, e12464, 2017.

MAKROO, H. A.; SAXENA, J.; RASTOGI, N. K.; SRIVASTAVA, B. Ohmic heating assisted polyphenol oxidase inactivation of watermelon juice: Effects of the treatment on pH, lycopene, total phenolic content, and color of the juice. **Journal of Food Processing and Preservation**, no prelo, 2017. DOI: 10.1111/jfpp.13271.

MARCHI, F. de; APREA, E.; ENDRIZZI, I.; CHARLES, M.; BETTA, E.; COROLLARO, M. L.; CAPPELLETTI, M.; FERRENTINO, G.; SPILIMBERGO, S.; GASPERI, S. Effects of pasteurization on volatile components and sensory properties of coconut

(*Cocos nucifera* L.) water: thermal vs. High-Pressure Carbon Dioxide pasteurization. **Food Bioprocess Technology**, v. 8, n. 7, p. 1393-1404, 2015.

MARSZAŁEK, K.; MITEK, M.; SKAPSKA, S. Effect of Continuous Flow Microwave and Conventional Heating on the Bioactive Compounds, Colour, Enzymes Activity, Microbial and Sensory Quality of Strawberry Purée. **Food Bioprocess Technology**, v. 8, n. 9, p. 1864-1876, 2015.

MARTINS, P. E. de. **Processadora semi-automática extratora de água de coco**. BR PI 0503969-0 A2, 6 de março de 2007.

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

MATSUI, K. N.; GRANADO, L. M.; OLIVEIRA, P. V. de; TADINI, C. C. Peroxidase and polyphenol oxidase thermal inactivation by microwaves in green coconut water simulated solutions. **Lebensmittel-Wissenschaft+Technologie / Food Science and Technology**, v. 40, n. 5, p. 852-859, 2007.

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

MAYER, A. M.; HAREL, E. PPOs and their Significance in Fruits and Vegetables. In: FOX, P. F. (Ed.) **Food Enzymology**. Londres: Elsevier Applied Science, 1991. V. 1, cap. 9, p. 373-398.

MERCALI, G. D.; SCHWARTZ, S.; MARCZAK, L. D. F.; TESSARO, I. C.; SASTRY, S. K. Ascorbic acid degradation and color changes in acerola pulp during ohmic heating: Effect of electric field frequency. **Journal of Food Engineering**, v. 123, n. 1, p. 1-7, 2014a.

MERCALI, G. D.; SCHWARTZ, S.; MARCZAK, L. D. F.; TESSARO, I. C.; SASTRY, S. K. Effect of the Electric Field Frequency on Ascorbic Acid Degradation during Thermal Treatment by Ohmic Heating. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 25, p. 5865-5870, 2014b.

MILLER, R. G. The jackknife – a review. **Biometrika**, v. 61, n. 1, p. 1-15, 1974.

MORITZ, J.; BALASA, A.; JAEGER, H.; MENESES, N.; KNORR, D. Investigating the potential of polyphenol oxidase as a temperature-time-indicator for pulsed electric field treatment. **Food Control**, v. 26, n. 1, p. 1-5, 2012.

MURASAKI-ALIBERTI, N. da C.; SILVA, R. M. S. da; GUT, J. A. W.; TADINI, C. C. Thermal Inactivation of polyphenoloxidase and peroxidase in green coconut (*Cocos nucifera*) water. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 44, n. 12, p. 2662-2668, 2009.

NAVARRO, L. J.; TÁRREGA, A.; SENTANDREU, M. A.; SENTANDREU, E. Partial purification and characterization of polyphenoloxidase from persimmon. **Food Chemistry**, v. 157, p. 283-289, 2014.

NAYAK, B.; LIU, R. H.; TANG, J. Effect of processing on phenolic antioxidants of fruits, vegetables, and grains – a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 55, n. 7, p. 887-918, 2015.

NDIAYE, C.; XU, S. L.; WANG, Z. Steam blanching effect on polyphenoloxidase, peroxidase and colour of mango (*Mangifera indica* L.) slices. **Food Chemistry**, v. 113, p. 92-95, 2009.

NELSON, S. O.; DATTA, A. K. Dielectric Properties of Food Materials and Electric Field Interactions. In: DATTA, A. K.; RAMASWAMY, C. A. (Ed.) **Handbook of Microwave Technology for Food Applications**. Nova York: Marcel Dekker Inc., 2001. Cap. 3, p. 69-107.

NIKDEL, S.; CHEN, C. S.; PARISH, M. E.; MACKELLAR, D. G.; FRIEDRICH, L. M. Pasteurization of citrus juice with microwave energy in a continuous-flow unit. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 41, p. 2116-2119, 1993.

NIKDEL, S.; MACKELLAR, D. G. A microwave system for continuous pasteurization of orange juice. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**, v. 105, p. 108-110, 1992.

O'HAGAN, A. Bayesian Statistics: principles and benefits. In: VAN BOEKEL, M. A. J. S.; STEIN, A.; VAN BRUGGEN, A. H. C. (Ed.) **Bayesian Statistics and Quality Modeling in the Agro-Food Production Chain**. Dordrecht: Kluwer Academic Press, 2004. Cap. 3, p. 31-44.

OBRIGADO. Salvador, 2020. Disponível em: <<http://www.obrigadonatural.com.br/>>. Acesso em: 04 de fevereiro de 2020.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS. Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura. **Good practice for the small-scale production of bottled coconut water**. Roma. 2007, 42 p. Disponível em: <<http://www.fao.org/docrep/010/a1418e/a1418e00.htm>>

OSTERMANN, A. Sensitivity Analysis. In: FELLIN, W.; LESSMANN, H.; OBERGUGGENBERGER, M. (Ed.) **Analyzing Uncertainty in Civil Engineering**. Berlim: Springer-Verlag, 2005. Cap. 6, p. 101-114.

OULÉ, K. M.; DICKMAN, M.; ARUL, J. Properties of orange juice with supercritical carbon dioxide treatment. **International Journal of Food Properties**, v. 16, p. 1693-1710, 2013.

PALANIAPPAN, S.; SASTRY, S. K.; RICHTER, E. R. Effects of electroconductive heat treatment and electrical pretreatment on thermal death kinetics of selected microorganisms. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 39, n. 2, p. 225-232, 1992.

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

PATEL, N. **Preventing oxygen from contacting coconut water during extraction from a coconut**. US 0156914 A1, 20 de junho de 2013.

PARISH, M. E. High pressure inactivation of *Saccharomyces cerevisiae*, endogenous microflora and pectinmethylesterase in orange juice. **Journal of Food Safety**, v. 18, n. 1, p. 57-65, 1998.

PARK, S. H.; BALASUBRAMANIAM, V. M.; SASTRY, S. K. Quality of shelf-stable low-acid vegetables processed using pressure-ohmic-thermal sterilization. **Lebensmittel-Wissenschaft+Technologie / Food Science and Technology**, v. 57, n. 1, p. 243-252, 2014.

PARKIN, K. L. General Characteristics of Enzymes. In: NAGODAWITHANA, T.; REED, G. (Ed.) **Enzymes in Food Processing**. 3 ed. San Diego: Academic Press, 1993. Cap. 2, p. 7-35.

PELEG, M. Modeling and simulation of microbial survival during treatments with a dissipating lethal chemical agent. **Food Research International**, v. 35, n. 4, p. 327-336, 2002.

PELEG, M. On the comparison between the performance of the Weibull/log-logistic and the log-Linear/Arrhenius survival models in sterility calculations. **Journal of Food Science**, v. 72, n. 6, p. vii-viii, 2007.

PELEG, M. It's Time to Revise Thermal Processing Theories. **Food Technology**, v. 60, n. 7, p. 92, 2006.

PELEG, M.; COLE, M. B. Reinterpretation of Microbial Survival Curves. **Critical Reviews in Food Science**, v. 38, n. 5, p. 353-380, 1998.

PELEG, M.; CORRADINI, M. G.; NORMAND, M. D. On Quantifying Nonthermal Effects on the Lethality of Pressure-Assisted Heat Preservation Processes. **Journal of Food Science**, v. 71, n. 1, p. R47-R56, 2012.

PELEG, M.; NORMAND, M. D.; CORRADINI, M. G. The Arrhenius Equation Revisited. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 52, n. 9, p. 830-851, 2012.

PELEG, M.; NORMAND, M. D.; CORRADINI, M. G.; VAN ASSELT, A. J.; JONG, P. de; STEEG, P. F. ter. Estimating the heat resistance parameters of bacterial spores from their survival ratios at the end of UHT and other heat treatments. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 48, n. 7, p. 634-648, 2008.

PELEG, M. PENCHINA, C. M. Modeling microbial survival during exposure to a lethal agent with varying intensity. **Critical Reviews in Food Science**, v. 40, n. 2, p. 159-172, 2000.

PÉNICAUD, C.; ACHIR, N.; DHUIQUE-MAYER, C.; DORNIER, M.; BOHUON, P. Degradation of β -carotene during fruit and vegetable processing or storage: reaction mechanisms and kinetic aspects: a review. **Fruits**, v. 66, n. 6, p. 417-440, 2011.

PFLUG, I. J.; HOLCOMB, R. G.; GÓMEZ, M. M. Principles of the Thermal Destruction of Microorganisms. In: BLOCK, S. S. **Disinfection, Sterilization and Preservation**. 5 ed. Filadélfia: Lippincott Williams & Wilkins, 2001. Cap. 6, p. 79-124

PILNIK, W.; VORAGEN, A. G. J. The Significance of Endogenous and Exogenous Pectic Enzymes in Fruit and Vegetable Processing. In: FOX, P. F. (Ed.) **Food Enzymology**. Londres: Elsevier Applied Science, 1991. V. 1, cap. 7, p. 303-332.

PILNIK, W.; VORAGEN, A. G. J. Pectic Enzymes in Fruit and Vegetable Manufacture. In: NAGODAWITHANA, T.; REED, G. (Ed.) **Enzymes in Food Processing**. 3 ed. San Diego: Academic Press, 1993. Cap. 14, p. 363-392.

POLAKOVIČ, M.; VRÁBEL, P. Analysis of the Mechanism and Kinetics of Thermal Inactivation of Enzymes: Critical Assessment of Isothermal Inactivation Experiments. **Process Biochemistry**, v. 31, n. 8, p. 787-800, 1996.

POLYDERA, A. C.; STOFOROS, N. G.; TAOUKIS, P. S. Comparative shelf life study and vitamin C loss kinetics in pasteurised and high pressure processed reconstituted orange juice. **Journal of Food Engineering**, v. 60, n. 1, p. 21-29, 2003.

POSCHET, F.; GEERAERD, A. H.; SCHEERLINCK, N.; NICOLAÏ, B. M.; VAN IMPE, J. F. Monte Carlo analysis as a tool to incorporate variation on experimental data in predictive microbiology. **Food Microbiology**, v. 20, n. 3, p. 285-295, 2003.

POTTER, N. N.; HOTCHKISS, J. H. **Food Science**. 5 ed. Nova York: Springer, 1995. 608 p.

PRADES, A.; DORNIER, M.; DIOP, N.; PAIN, J. P. Coconut water preservation and processing: a review. **Fruits**, v. 67, n. 3, p. 157-171, 2012a.

PRADES, A.; DORNIER, M.; DIOP, N.; PAIN, J. P. Coconut water uses, composition and properties: a review. **Fruits**, v. 67, n. 2, p. 87-107, 2012b.

PRICE, N. C.; STEVENS, L. Enzymes: Structure and Function. In: FOX, P. F. (Ed.) **Food Enzymology**. Londres: Elsevier Applied Science, 1991. V. 1, cap. 1, p. 1-50.

PÜTTER, J.; BECKER, R. Peroxidases. In: BERGMAYER, H. U.; BERGMAYER, J. GRASSL, M. (Ed.) **Methods of Enzymatic Analysis**. Weinheim: Verlag Chemie, 1983. Cap. 3.10, p. 286-293.

RAMASWAMY, H. S.; MARCOTTE, M. **Food Processing: Principles and Applications**. Boca Raton: CRC Press, 2006. 420 p.

RAMÍREZ, E. C.; WHITAKER, J. R.; VIRADOR, V. M. Polyphenol Oxidase. In: WHITAKER, J. R.; VORAGEN, A. G. J.; WONG, D. W. S. (Ed.) **Handbook of Food Enzymology**. Nova York: Marcel Dekker Inc., 2003. Cap. 39, p. 509-521.

RAWSON, A.; PATRAS, A.; TIWARI, B. K.; NOCI, F.; KOUTCHMA, T.; BRUNTON, N. Effect of thermal and non thermal processing technologies on the bioactive content of exotic fruits and their products: Review of recente advances. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 1875-1887, 2011.

RAYTHEON MANUFACTURING COMPANY. Percy Spencer. **Method of treating foodstuffs**. US 2495429, 24 de janeiro de 1950.

RAYTHEON MANUFACTURING COMPANY. Percy Spencer. **Means of treating foodstuffs**. US 2605383, 29 de julho de 1952.

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

REGIER, M.; SCHUBERT, H. Microwave processing. In: RICHARDSON, P. (Ed.) **Thermal Technologies in Food Processing**. Boca Raton: CRC Press, 2001. Cap. 10, p. 178-203.

ROBINSON, D. S. Peroxidases and Catalases in Foods. In: ESKIN, M.; ROBINSON, D. S. (Ed.) **Oxidative Enzymes in Foods**. Londres: Elsevier Applied Science, 1991a. Cap. 1, p. 1-40.

ROBINSON, D. S. PODs and their Significance in Fruits and Vegetables. In: FOX, P. F. (Ed.) **Food Enzymology**. Londres: Elsevier Applied Science, 1991b. V. 1, cap. 10, p. 399-426.

RODRIGUES, R. de Q.; DALMÁS, M.; MULLER, D. C.; ESCOBAR, D. D.; PIZZATO, A. C.; MERCALI, G. D.; TONDO, E. C. Evaluation of nonthermal effects of electricity on inactivation kinetics of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* during ohmic heating of infant formula. **Journal of Food Safety**, e.12372, p. 1-8, 2017.

ROJAS, M. L.; TREVILIN, J. H.; AUGUSTO, P. E. D. The ultrasound technology for modifying enzyme activity. **Scientia Agropecuaria**, v. 7, n. 2, p. 145-150, 2016.

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

ROSA, J. S. da; GODOY, R. L. de O.; OIANO NETO, J.; CAMPOS, R. da S.; ARAUJO, M. C. P. de; BORGUINI, R. G.; PACHECO, S.; MATTA, V. C. da. Estudo da taxa de degradação de vitamina C em alguns sucos de frutas. In: SIMPÓSIO DE SEGURANÇA ALIMENTAR, 3., 2010, Florianópolis. **Anais do 3º Simpósio de Segurança Alimentar**. Porto Alegre: UFRGS, 2010. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/sbctars/ssa3/trabalhos>>.

ROSA, M. de F.; ABREU, F. A. P. de. **Água de coco: Métodos de Conservação**. Fortaleza: Embrapa – CNPAT/SEBRAE/CE, 2000. 37 p.

ROUGIER, C.; PROROT, A.; CHAZAL, P.; LEVEQUE, P.; LEPRAT, P. Thermal and Nonthermal Effects of Discontinuous Microwave Exposure (2.45 Gigahertz) on the Cell Membrane of *Escherichia coli*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 80, n. 16, p. 4832-4841, 2014.

ROUSE, A. H. Distribution of pectinesterase and total pectin in component parts of citrus fruits. **Food Technology**, v. 7, n. 9, p. 360-362, 1953.

ROUSE, A. H.; ATKINS, C. D. Heat inactivation of pectinesterase in citrus juices. **Food Technology**, v. 6, n. 8, p. 291-294, 1952.

ROUSE, A. H.; ATKINS, C. D. Further results from a study on heat inactivation of pectinesterase in citrus juices. **Food Technology**, v. 7, n. 6, p. 221-223, 1953.

ROY, I.; GUPTA, M. N. Non-thermal effects of microwaves on protease-catalyzed esterification and transesterification. **Tetrahedron**, v. 59, n. 29, p. 5431-5436, 2003.

SAKAI, N.; MAO, W. Infrared heating. In: SUN, D. (Ed.) **Thermal Food Processing: New Technologies and Quality Issues**. Boca Raton: CRC Press, 2006. Cap. 16, p. 493-522.

SAKR, M.; LIU, S. A comprehensive review on applications of ohmic heating (OH). **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 39, p. 262-269, 2014.

SALAZAR-GONZÁLEZ, C.; MARTÍN-GONZÁLEZ, M. F. S.; LÓPEZ-MALO, A.; SOSA-MORALES, M. E. Recent Studies Related to Microwave Processing of Fluid Foods. **Food Bioprocess Technology**, v. 5, n. 1, p. 31-46, 2012.

SALVI, D.; ORTEGO, J.; ARAUZ, C.; SABLIOV, C. M.; BOLDOR, D. Experimental study of the effect of dielectric and physical properties on temperature distribution in fluids during continuous flow microwave heating. **Journal of Food Engineering**, v. 93, n. 2, p. 149-157, 2009.

SAMANI, B. H.; KHOSHTAGHAZA, M. H.; LORIGOOINI, Z.; MINAEI, S.; ZAREIFOROUGH, H. Analysis of the combinative effect of ultrasound and microwave power on *Saccharomyces cerevisiae* in orange juice processing. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 32, p. 110-115, 2015.

SAMARANAYAKE, C. P.; SASTRY, S. K. Effects of controlled-frequency moderate electric fields on pectin methylesterase and polygalacturonase activities in tomato homogenate. **Food Chemistry**, v. 199, p. 265-272, 2016a.

SAMARANAYAKE, C.P.; SASTRY, S.K. Effect of moderate electric fields on inactivation kinetics of pectin methylesterase in tomatoes: The roles of electric field strength and temperature. **Journal of Food Engineering**, v. 186, p. 17-26, 2016b.

SAMARANAYAKE, C. P.; SASTRY, S. K. In-situ activity of α -amylase in the presence of controlled-frequency moderate electric fields. **Lebensmittel-Wissenschaft+Technologie / Food Science and Technology**, v. 90, p. 448-454, 2018.

SAMPEDRO, F.; FAN, X. Inactivation kinetics and photoreactivation of vegetable oxidative enzymes after combined UV-C and thermal processing. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 23, p. 107-113, 2014.

SAMPEDRO, F.; RODRIGO, D.; HENDRICKX, M. Inactivation kinetics of pectin methyl esterase under combined thermal-high pressure treatment in an orange juice-milk beverage. **Journal of Food Engineering**, v. 86, n. 1, p. 133-139, 2008.

SANTOS FILHO, H. P.; MAGALHÃES, A. F. de J.; COELHO, Y. da S. **Citros: o produtor pergunta, a Embrapa responde**. Coleção 500 perguntas, 500 respostas. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. 219 p.

SANTOSO, U.; KUBO, K.; OTA, T.; TADOKORO, T.; MAEKAWA, A. Nutrient composition of *kopyor* coconuts (*Cocos nucifera* L.). **Food Chemistry**, v. 57, n. 2, p. 299-304, 1996.

SARANG, S.; SASTRY, S. K.; KNIPE, L. Electrical conductivity of fruits and meats during ohmic heating. **Journal of Food Engineering**, v. 87, n. 3, p. 351-356, 2008.

SASTRY, S. K. Advances in Ohmic Heating and Moderate Electric Field (MEF) Processing. In: CANO, M. P.; TAPIA, M. S.; BARBOSA-CANOVAS, G. V. (Eds.) **Novel Food Processing Technologies**. Boca Raton: CRC Press, 2005. Cap. 23, p. 491-498.

SASTRY, S. K.; YOUSEF, A.; CHO, H.; UNAL, R.; SALENGKE, S.; WANG, W.; LIMA, M. KULSHRESTHA, S.; WONGSA-NGASRI, P.; SENSOY, I. Ohmic Heating and Moderate Electric Field (MEF) Processing. In: WELTI-CHANES, J.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V.; AGUILERA, J. M. (Eds.) **Engineering and Food for the 21st Century**. Boca Raton: CRC Press, 2002. Cap. 47, p. 785-791.

SAXENA, V. K.; CHANDRA, U. Microwave Synthesis: A Physical Concept. In: CHANDRA, U. (Ed.) **Microwave Heating**. Viena: InTech, 2011. Cap. 1, p. 1-20. Disponível em: <<http://www.intechopen.com/books/microwave-heating>>.

SAXENA, J.; MAKROO, H. A.; SRIVASTAVA, B. Effect of ohmic heating on Polyphenol Oxidase (PPO) inactivation and color change in sugarcane juice. **Journal of Food Process Engineering**, v. 40, n. 3, e12485, 2017.

SCHOKKER, E. P.; VAN BOEKEL, M. A. J. S. Kinetic modeling of enzyme inactivation: Kinetics of heat inactivation at 90-110 °C of extracellular proteinase from *Pseudomonas fluorescens* 22F. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, n. 12, p. 4740-4747, 1997.

SENSOY, I. Design of Ohmic Heating Processes. In: AHMED, J.; RAHMAN, M. S. (Eds.) **Handbook of Food Process Design**. Ames: Blackwell Publishing, 2012. Cap. 36, p. 1057-1071.

SERMENT-MORENO, V.; BARBOSA-CÁNOVAS, G.; TORRES, J. A.; WELTI-CHANES, J. High-Pressure Processing: Kinetic Models for Microbial and Enzyme Inactivation. **Food Engineering Reviews**, v. 6, n. 3, p. 56-88, 2014.

SERMENT-MORENO, V.; FUENTES, C.; BARBOSA-CÁNOVAS, G.; TORRES, J. A.; WELTI-CHANES, J. Evaluation of High Pressure Processing Kinetic Models for Microbial Inactivation Using Standard Statistical Tools and Information Theory Criteria, and the Development of Generic Time-Pressure Functions for Process Design. **Food and Bioprocess Technology**, v. 8, n. 6, p. 1244-1257, 2015.

SERMENT-MORENO, V.; FUENTES, C.; TORRES, J. A.; WELTI-CHANES, J. A Gompertz model approach to microbial inactivation kinetics by high-pressure processing (HPP): Model selection and experimental validation. **Journal of Food Science**, v. 82, n. 8, p. 1885-1891, 2017.

SHAMIS, Y.; CROFT, R.; TAUBE, A.; CRAWFORD, R. J.; IVANOVA, E. P. Review of the specific effects of microwave radiation on bacterial cells. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 96, n. 2, p. 319-325, 2012.

SHARMA, S. K.; MULVANEY, S. J.; RIZVI, S. S. H. **Food Process Engineering: Theory and Laboratory Experiments**. Nova York: John Wiley & Sons, 2000. 308 p.

SHAZMAN, A.; MIZRAHI, S.; COGAN, U.; SHIMONI, E. Examining for possible non-thermal effects during heating in a microwave oven. **Food Chemistry**, v. 103, n. 2, p. 444-453, 2007.

SIGUEMOTO, É. S.; GUT, J. A. W.; MARTINEZ, A.; RODRIGO, D. Inactivation kinetics of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* in apple juice by microwave and conventional thermal processing. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 45, p. 84-91, 2018.

SILVA, C. R. R. e; MAIA, G. A.; RODRIGUES, M. do C. P.; COSTA, J. M. C. da; FIGUEIREDO, R. W. F. de; SOUSA, P. H. M. de; FERNANDES, A. G. Estabilidade da água de coco submetida ao processo "hot-pack". **Publicatio UEPG: Ciências Exatas e da Terra, Ciências Agrárias e Engenharias**, v. 9, n. 3, p. 15-21, 2003

SILVA, V. L. M.; SANTOS, L. M. N. B. F.; SILVA, A. M. S. Ohmic heating: an emerging concept in organic synthesis. **Chemistry-A European Journal**, v. 23, n. 33, p. 7853-7865, 2017.

SINCLAIR, W. B.; BARTHOLOMEW, E. T.; RAMSEY, R. C. Analysis of the organic acids of orange juice. **Plant Physiology**, v. 20, n. 1, p. 3-18, 1945.

SOERGEL, W. K. **Processo e instalação para extração de água de coco**. BR PI 9910886-0 A2, 26 de junho de 2001.

SOLONEN, A. **Monte Carlo Methods in Parameter Estimation of Nonlinear Models**. 2006. 117 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade de Tecnologia de Lappeeranta, Lappeeranta, 2006.

SOMAVAT, R.; MOHAMED, H. M. H.; SASTRY, S. K. Inactivation kinetics of *Bacillus coagulans* spores under ohmic and conventional heating. **Lebensmittel-Wissenschaft+Technologie / Food Science+Technology**, v. 54, n. 1, p. 194-198, 2013.

SOMAVAT, R.; MOHAMED, H. M. H.; CHUNG, Y.; YOUSEF, A. E.; SASTRY, S. K. Accelerated inactivation of *Geobacillus stearothermophilus* spores by ohmic heating. **Journal of Food Engineering**, v. 108, n. 1, p. 69-76, 2012.

STEED, L. E.; TRUONG, V.; SIMUNOVIC, J. SANDEEP, K. P.; KUMAR, P.; CARTWRIGHT, G. D.; SWARTZEL, K. R. Continuous Flow Microwave-Assisted Processing and Aseptic Packaging of Purple-Fleshed Sweetpotato Purees. **Journal of Food Science**, v. 73, n. 9, p. E455-E462, 2008.

STINCO, C. M.; FERNÁNDEZ-VÁZQUEZ, R.; ESCUDERO-GILETE, M. L.; HEREDIA, F. J.; MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, A. J.; VICARIO, I. M. Effect of Orange Juice's Processing on the Color, Particle Size, and Bioaccessibility of Carotenoids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 6, p. 1447-1455, 2012.

STRATAKOS, A. C.; DELGADO-PANDO, G.; LINTON, M.; PATTERSON, M. F.; KOIDIS, A. Industrial scale microwave processing of tomato juice using a novel continuous microwave system. **Food Chemistry**, v. 190, p. 622-628, 2016.

SUCUPIRA, N. R.; WURLITZER, N. J.; DIONISIO, A. P.; ABREU, F. A. P. de; SOUSA, P. H. M. de. Effect of sulphite and UHT sterilization parameters in the coconut water quality. **Chemical Engineering Transactions**, v. 44, p. 79-84, 2015.

SUN, N. K.; SONG, K. B. Effect of nonthermal treatment on the molecular properties of mushroom polyphenoloxidase. **Journal of Food Science**, v. 68, n. 5, p. 1639-1643, 2003.

TAJCHAKAVIT, S.; RAMASWAMY, H. S. Continuous-flow microwave heating of orange juice: Evidence of nonthermal effects. **Journal of Microwave Power and Electromagnetic Energy**, v. 30, n. 3, p. 141-148, 1995.

TAJCHAKAVIT, S.; RAMASWAMY, H. S. Thermal vs. Microwave Inactivation Kinetics of Pectin Methyltransferase in Orange Juice Under Batch Mode Heating Conditions. **Lebensmittel-Wissenschaft+Technologie / Food Science and Technology**, v. 30, n. 1, p. 85-93, 1997.

TAJCHAKAVIT, S.; RAMASWAMY, H. S.; FUSTIER, P. Enhanced destruction of spoilage microorganisms in apple juice during continuous flow microwave heating. **Food Research International**, v. 31, n. 10, p. 713-722, 1998.

TAN, T.; CHENG, L.; BHAT, R.; RUSUL, G.; EASA, A. M. Composition, physicochemical properties and thermal inactivation kinetics of polyphenol oxidase and

peroxidase from coconut (*Cocos nucifera*) water obtained from immature, mature and overly-mature coconut. **Food Chemistry**, v. 142, p. 121-128, 2014.

TANG, J. Unlocking Potentials of Microwaves for Food Safety and Quality. **Journal of Food Science**, v. 80, n. 8, p. E1776-E1793, 2015.

TANG, J.; HAO, F.; LAU, M. Microwave Heating in Food Processing. In: YANG, X.; TANG, J. (Ed.) **Advances in Bioprocessing Engineering**. Cingapura: World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd., 2002. Cap. 1, p. 1-44.

TEIXEIRA, A. A. Simulating Thermal Food Processes Using Deterministic Models. In: SUN, D. (Ed.) **Thermal Food Processing**. Boca Raton: CRC Press, 2006. Cap. 3, p. 73-104.

TEIXEIRA, A. A. Thermal Processing of Canned Foods. In: HELDMAN, D. R.; LUND, D. B. (Ed.) **Handbook of Food Engineering**. 2 ed. Boca Raton: CRC Press, 2007. Cap. 11, p. 746-794.

TEWARI, G. Microwave and Radio-Frequency Heating. In: TEWARI, G.; JUNEJA, V. K. (Ed.) **Advances in Thermal and Non-Thermal Food Processing**. Ames: Blackwell Publishing, 2007. Cap. 5, p. 91-98.

THIPPAREDDI, H.; SANCHEZ, M. Thermal Processing of Meat Products. In: SUN, D. (Ed.) **Thermal Food Processing: New Technologies and Quality Issues**. Boca Raton: CRC Press, 2006. Cap. 6, p. 156-192.

TIAN, X.; YU, Q.; SHAO, L.; LI, X.; DAI, R. Sublethal injury and recovery of *Escherichia coli* O157:H7 after ohmic heating. **Food Control**, v. 94, p. 85-92, 2018.

TIMMERMANS, R. A. H.; MASTWIJK, H. C.; KNOL, J. J.; QUATAERT, M. C. J.; VERVOORT, L.; PLANCKEN, I. Van der; HENDRICKX, M. E.; MATSER, A. M. Comparing equivalent thermal, high pressure and pulsed electric field processes for mild pasteurization of orange juice. Part I: impact on overall quality attributes. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 12, n. 3, p. 235-243, 2011.

TIWARI B. K.; MUTHUKUMARAPPAN, K.; O'DONNELL, C. P.; CULLEN, P. J. Colour degradation and quality parameters of sonicated orange juice using response surface methodology. **Lebensmittel-Wissenschaft+Technologie / Food Science and Technology**, v. 41, n. 10, p. 1876-1883, 2008.

TOLEDO, R. T. **Fundamentals of Food Process Engineering**. 3 ed. Gaithersburg: Aspen Publishers, Inc., 2007. 602 p.

TRIBESS, T. B.; RODAS, M. A. de B.; DELLA TORRE, J. C. de M.; TADINI, C. C. The effect of refrigerated storage on sensory profile and physical-chemical characteristics of minimally pasteurized orange juice. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 33, p. 264-280, 2009.

ÜLGEN, N.; ÖZILGEN, M.; Kinetic compensation relations for ascorbic acid degradation and pectinesterase inactivation during orange juice pasteurisations. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 57, n. 1, p. 93-100, 1991.

UNOCO. Londres, 2016. Disponível em: <<http://www.unocodrinks.com>>. Acesso em: 28 de abril de 2016.

VAN BELLE, G. **Statistical Rules of Thumb**. Nova York: John Wiley & Sons, 2002. 248 p.

VAN BOEKEL, M. A. J. S. Statistical Aspects of Kinetic Modeling for Food Science Problems. **Journal of Food Science**, v. 61, n. 3, p. 477-485, 1996

VAN BOEKEL, M. A. J. S.; JONGEN, W. M. F. Product quality and food processing: how to quantify the healthiness of a product. **Cancer Letters**, v. 114, n. 1-2, p. 65-69, 1997.

VAN BOEKEL, M. A. J. S. On the use of the Weibull model to describe thermal inactivation of microbial vegetative cells. **International Journal of Food Microbiology**, v. 74, n. 1-2, p. 139-159, 2002.

VAN BOEKEL, M. A. J. S. Kinetic Modeling of Food Quality: A Critical Review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 7, n. 1, p. 144-158, 2008.

VAN BOEKEL, M. A. J. S. Bayesian solutions for food-science problems? In: VAN BOEKEL, M. A. J. S.; STEIN, A.; VAN BRUGGEN, A. H. C. (Ed.) **Bayesian Statistics and Quality Modeling in the Agro-Food Production Chain**. Dordrecht: Kluwer Academic Press, 2004. Cap. 2, p. 17-25.

VAN BOEKEL, M. A. J. S.; FOGLIANO, V.; PELLEGRINI, N.; STANTON, C.; SCHOLZ, G.; LALLJIE, S.; SOMOZA, V.; KNORR, D.; JASTI, P. R.; EISENBRAND, G. A review on the beneficial aspects of food processing. **Molecular Nutrition and Food Research**, v. 54, n. 9, p. 1215-1247, 2010.

VAN LOEY, A.; INDRAWATI, O.; SMOUT, C.; HENDRICKX, M. Inactivation of Enzymes: From Experimental Design to Kinetic Modeling. In: WHITAKER, J. R.; VORAGEN, A. G. J.; WONG, D. W. S. (Ed.) **Handbook of Food Enzymology**. Nova York: Marcel Dekker Inc., 2003. Cap. 5, p. 49-57.

VARGHESE, K. S.; PANDEY, M. C.; RADHAKRISHNA, K.; BAWA, A. S. Technology, applications and modelling of ohmic heating: a review. **Journal of Food Science and Technology**, v. 51, n. 10, p.2304-2317, 2014.

VERSTEEG, C.; ROMBOUTS, F. M.; SPAANSEN, C. H.; PILNIK, W. Thermostability and orange juice cloud destabilizing properties of multiple pectinesterases from oranges. **Journal of Food Science**, v. 45, n. 4, p. 969-971, 1980.

VERVOORT, L.; PLANCKEN, I. Van der; GRAUWET, T.; TIMMERMANS, R. A. H.; MASTWIJK, H. C.; MATSER, A. M.; HENDRICKX, M. E.; VAN LOEY, A. Comparing

equivalent thermal, high pressure and pulsed electric field processes for mild pasteurization of orange juice. Part II: impact on specific chemical and biochemical quality parameters. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 12, n. 4, p. 466-477, 2011.

VICENTE, A. A.; CASTRO, I. de; TEIXEIRA, J. A.; MACHADO, L. F. Ohmic Heating Treatment. In: SUN, D. (Ed.) **Handbook of Food Safety Engineering**. Ames: Blackwell Publishing, 2012. Cap. 27, p. 669-678.

VIKRAM, V. B.; RAMESH, M. N.; PRAPULLA, S. G. Thermal degradation kinetics of nutrients in orange juice heated by electromagnetic and conventional methods. **Journal of Food Engineering**, v. 69, n. 1, p. 31-40, 2005.

WATSON, H. E. A note on the variation of the rate of disinfection with change in the concentration of the disinfectant. **The Journal of Hygiene**, v. 8, n. 4, p. 536-542, 1908.

WEIBULL, W. A statistical distribution function of wide applicability. **Journal of Applied Mechanics**, v. 18, n. 3, p. 293-297, 1951.

WHITAKER, J. R. Protein Structure and Kinetics of Enzyme Reactions: A Historical Perspective. In: WHITAKER, J. R.; VORAGEN, A. G. J.; WONG, D. W. S. (Ed.) **Handbook of Food Enzymology**. Nova York: Marcel Dekker Inc., 2003. Cap. 1, p. 1-8.

WICKER, L.; TEMELLI, F. Heat inactivation of pectinesterase in orange juice pulp. **Journal of Food Science**, v. 53, n. 1, p. 162-164, 1988.

XU, B.; WANG, L. K.; MIAO, W. J.; WU, Q. F.; LIU, Y. X.; SUN, Y.; GAO, C. Thermal versus microwave inactivation kinetics of lipase and lipoxygenase from wheat germ. **Journal of Food Process Engineering**, v. 39, n. 3, p. 247-255, 2016.

YEMENICIOĞLU, A.; ÖZKAN, M.; CEMEROĞLU, B. Heat inactivation kinetics of apple PPO and activation of its latent form. **Journal of Food Science**, v. 62, n. 3, p. 508-510, 1997.

YILDIZ, H.; GUVEN, E. Industrial applications and potential use of ohmic heating for fluid foods. **Bulgarian Chemical Communications**, v. 46, n. B, p. 98-102, 2014.

YOUSEFI, S.; EMAM-DJOMEH, Z.; MOUSAVI, S. M. A.; ASKARI, G. R. Comparing the Effects of Microwave and Conventional Heating Methods on the Evaporation Rate and Quality Attributes of Pomegranate (*Punica granatum* L.) Juice Concentrate. **Food Bioprocess Technology**, v. 5, n. 4, p. 1328-1339, 2012.

YUAN, Z. Y.; JIANG, T. J. Horseradish Peroxidase. In: WHITAKER, J. R.; VORAGEN, A. G. J.; WONG, D. W. S. (Ed.) **Handbook of Food Enzymology**. Nova York: Marcel Dekker Inc., 2003. Cap. 28, p. 403-409.

ZAWISTOWSKI, J.; BILIADERIS, C. G.; ESKIN, M. Polyphenol Oxidase. In: ESKIN, M.; ROBINSON, D. S. (Ed.) **Oxidative Enzymes in Foods**. Londres: Elsevier Applied Science, 1991. Cap. 6, p. 217-255.

ZHANG, H. Electrical Properties of Foods. In: BARBOSA-CÁNOVAS, G. (Ed.) **Food Engineering**. UNESCO-EOLSS, 2009. V. 1, Cap. 4, p. 110-112.

ZHANG, H.; DATTA, A. K. Electromagnetics of Microwave Heating: Magnitude and Uniformity of Energy Absorption in an Oven. In: DATTA, A. K.; RAMASWAMY, C. A. (Ed.) **Handbook of Microwave Technology for Food Applications**. Nova York: Marcel Dekker Inc., 2001. Cap. 2, p. 33-62.

ZHAO, Y. Radio Frequency Dielectric Heating. In: SUN, D. (Ed.) **Thermal Food Processing: New Technologies and Quality Issues**. Boca Raton: CRC Press, 2006. Cap. 15, p. 469-489.

ZHONG, K.; WU, J.; WANG, Z.; CHEN, F.; LIAO, X.; HU, X.; ZHANG, Z. Inactivation kinetics and secondary structural change of PEF-treated POD and PPO. **Food Chemistry**, v. 100, n. 1, p. 115-123, 2007.

APÊNDICE A – Dados de inativação da PPO e da POD em água de coco verde e da PE em suco de laranja por aquecimento convencional, ôhmico e por micro-ondas focalizadas

Tabela A.1: Atividades residuais experimentais da PPO e temperaturas e tempos de retenção nominais em aquecimento de água de coco para ajuste de modelos

Retenção nominal (s)	Temperatura nominal de processo (°C)	Aquecimento convencional		Aquecimento por micro-ondas	
		A/A ₀ médio	Desvio de A/A ₀	A/A ₀ médio	Desvio de A/A ₀
5	60	75%	14%	93%	3%
10	60	59%	14%	94%	22%
15	60	75%	11%	96%	8%
30	60	54%	9%	87%	4%
45	60	69%	12%	83%	12%
60	60	62%	8%	86%	21%
90	60	46%	7%	84%	5%
120	60	67%	8%	75%	8%
150	60	54%	6%	66%	6%
180	60	40%	7%	76%	10%
5	70	66%	10%	61%	15%
10	70	63%	18%	59%	3%
15	70	75%	10%	72%	37%
30	70	52%	13%	61%	5%
45	70	33%	7%	42%	3%
60	70	41%	10%	50%	3%
75	70	41%	5%	48%	9%
90	70	45%	5%	34%	2%
120	70	15%	3%	28%	9%
150	70	10%	2%	33%	10%
5	80	37%	10%	41%	20%
10	80	26%	14%	15%	5%
15	80	48%	9%	13%	0%
20	80	30%	11%	17%	2%
30	80	22%	9%	17%	5%
45	80	21%	13%	10%	1%
60	80	28%	7%	23%	8%
75	80	20%	5%	7%	1%
90	80	15%	5%	9%	3%
1	90	21%	4%	1%	2%
5	90	6%	1%	1%	1%
10	90	15%	4%	2%	0%
15	90	2%	2%	5%	0%
20	90	7%	4%	2%	2%

Fonte: o próprio autor (2020)

Tabela A.2: Atividades residuais experimentais da PPO e temperaturas e tempos de retenção nominais em aquecimento de água de coco para validação de modelos

Retenção nominal (s)	Temperatura nominal de processo (°C)	Aquecimento convencional		Aquecimento por micro-ondas	
		A/A_0 médio	Desvio de A/A_0	A/A_0 médio	Desvio de A/A_0
1	65	69%	10%	89%	14%
20	65	60%	9%	63%	10%
50	65	57%	27%	79%	14%
65	65	45%	15%	76%	9%
100	65	47%	13%	63%	7%
160	65	41%	22%	50%	13%
1	75	39%	5%	48%	19%
10	75	33%	3%	36%	13%
20	75	29%	13%	40%	7%
30	75	40%	11%	38%	8%
50	75	34%	25%	15%	3%
80	75	18%	3%	16%	5%
1	85	17%	3%	9%	3%
5	85	11%	3%	8%	4%
10	85	14%	2%	2%	3%
20	85	11%	5%	9%	2%
30	85	22%	18%	8%	2%
50	85	6%	4%	5%	4%

Fonte: o próprio autor (2020)

Tabela A.3: Atividades residuais experimentais da POD e temperaturas e tempos de retenção nominais em aquecimento de água de coco para ajuste de modelos

Retenção nominal (s)	Temperatura nominal de processo (°C)	Aquecimento convencional		Aquecimento por micro-ondas	
		A/A ₀ médio	Desvio de A/A ₀	A/A ₀ médio	Desvio de A/A ₀
1	60	85%	5%	99%	14%
30	60	88%	6%	94%	13%
60	60	83%	6%	91%	7%
90	60	81%	6%	90%	5%
120	60	87%	5%	80%	5%
150	60	63%	4%	78%	4%
180	60	85%	6%	69%	5%
210	60	66%	4%	65%	5%
1	70	63%	12%	84%	8%
30	70	63%	12%	72%	7%
60	70	71%	11%	66%	6%
90	70	100%	19%	87%	6%
120	70	70%	12%	89%	12%
150	70	74%	13%	87%	8%
180	70	101%	16%	85%	4%
210	70	107%	18%	83%	9%
1	80	91%	11%	61%	3%
20	80	70%	9%	52%	3%
40	80	94%	14%	59%	2%
60	80	72%	8%	59%	2%
80	80	78%	10%	61%	3%
100	80	111%	12%	65%	3%
120	80	110%	12%	60%	2%
140	80	108%	11%	49%	2%
1	90	51%	6%	33%	2%
10	90	65%	8%	25%	3%
20	90	40%	6%	17%	1%
30	90	57%	7%	27%	4%
40	90	22%	8%	14%	2%
50	90	9%	3%	14%	2%

Fonte: o próprio autor (2020)

Tabela A.4: Atividades residuais experimentais da PE e temperaturas e tempos de retenção nominais em aquecimento ôhmico e convencional de suco de laranja para ajuste de modelos

Retenção nominal (s)	Temperatura nominal de processo (°C)	Aquecimento convencional		Aquecimento ôhmico	
		A/A ₀ médio	Desvio de A/A ₀	A/A ₀ médio	Desvio de A/A ₀
0	60	76%	2%	77%	1%
10	60	75%	1%	70%	1%
30	60	51%	1%	56%	1%
30	60	62%	1%	58%	1%
50	60	44%	1%	50%	2%
100	60	41%	2%	53%	1%
150	60	41%	1%	46%	1%
200	60	38%	1%	43%	1%
0	70	15%	1%	26%	1%
5	70	9%	2%	13%	1%
20	70	7%	1%	13%	1%
50	70	7%	3%	10%	1%
100	70	2%	1%	11%	1%
150	70	2%	1%	7%	0%
200	70	6%	1%	7%	0%
0	80	3%	0%	5%	1%
5	80	1%	0%	4%	0%
10	80	1%	1%	2%	0%
30	80	1%	1%	3%	1%
50	80	2%	0%	0%	0%
100	80	3%	0%	5%	1%
0	90	0%	0%	1%	0%
1	90	0%	0%	0%	0%
2	90	0%	0%	0%	1%
5	90	0%	1%	0%	0%

Fonte: o próprio autor (2020)