



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

**LUIZA MICHELLY GONÇALVES LIMA MOTA**

**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DE SUCO DE CAJU (*Anacardium occidentale*)  
PROCESSADO POR PLASMA FRIO E ULTRASSOM**

**FORTALEZA**

**2022**

LUIZA MICHELLY GONÇALVES LIMA MOTA

AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DE SUCO DE CAJU (*Anacardium occidentale*)  
PROCESSADO POR PLASMA FRIO E ULTRASSOM

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará, como requisito obrigatório para obtenção do título de mestre em Ciências e Tecnologia de Alimentos. Área de concentração: Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador (a): Profa Dra. Sueli Rodrigues.  
Co-orientador (a): Profa Dra. Thaiz Batista Azevedo Rangel Miguel.

FORTALEZA

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

M871a Mota, Luiza Michelly Gonçalves Lima.

Avaliação da toxicidade de suco de caju (*Anacardium occidentale*) processado por plasma frio e ultrassom / Luiza Michelly Gonçalves Lima Mota. – 2022.  
92 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Fortaleza, 2022.

Orientação: Prof. Dr. Sueli Rodrigues .

Coorientação: Prof. Dr. Thaiz Batista Azevedo Rangel Miguel .

1. Artemia salina. 2. Suco de caju. 3. Processamento não térmico. 4. Toxicidade. I. Título.

CDD 664

---

LUIZA MICHELLY GONÇALVES LIMA MOTA

AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DE SUCO DE CAJU (*Anacardium occidentale*)  
PROCESSADO POR PLASMA FRIO E ULTRASSOM

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Ciências e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará, como requisito obrigatório para obtenção do título de mestre em Ciências e Tecnologia de Alimentos. Área de concentração: Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Aprovada em: 05/09/2022

BANCA EXAMINADORA

---

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

---

Prof. Dr. Italo Waldimiro Lima de França  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Profa Dra. Thatyane Vidal Fonteles  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

*A minha mãe família,  
por ser presença em minha vida.  
Com amor, dedico.*

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus desde o momento em que fui abençoada ao ser aprovada na seleção. Obrigada por me transmitir força, foco e fé que me acompanharam ao longo desses anos e que não me permitiram desistir. Serei eternamente grata à Deus por todas as bênçãos sobre a minha família e por proporcionar tranquilidade aos corações daqueles que acompanharam a minha trajetória acadêmica.

Agradeço a Universidade Federal do Ceará-UFC, que me deu a oportunidade de cursar Ciências e Tecnologia de Alimentos nesta renomada instituição. Obrigada por proporcionar um ambiente saudável para todos os alunos, além de estimular a criatividade, a interação e a participação nas atividades acadêmicas. Sou grata a todo corpo docente, à direção e administração dessa instituição. Mesmo passando por muitas dificuldades como essa pandemia, que trouxe muitos desafios para todos.

Agradeço aos meus pais que me proporcionaram a melhor educação e lutaram para que eu estivesse concluindo mais essa etapa da minha vida. Sei o quanto vocês se doaram para a realização deste sonho.

Aos meus colegas de curso, pela amizade e apoio nessa nossa caminhada; longo de todo meu percurso eu tive o privilégio de trabalhar de perto com os melhores professores, educadores, orientadores. Sem eles não seria possível estar aqui hoje de coração repleto de orgulho.

Aos meus amigos do laboratório e do grupo LABIOTEC da professora Sueli, pela ajuda nas pesquisas e na parte prática do meu trabalho. Vocês foram meu apoio;

Ao meu querido irmão Dr. Wemmenson pela ajuda nos momentos mais complicados e difíceis, sempre foi como um segundo pai para mim;

Agradeço a minha amada mãe Toinha e meu pai Valdeci (*in memorian*), que me proporcionaram a melhor educação e lutaram para que eu estivesse concluindo mais essa etapa da minha vida. Sei o quanto vocês se doaram para a realização desse sonho.

Aos meus sobrinhos, tios, tias, avós, madrinhas, padrinhos e primos que entenderam a minha ausência, acompanharam a minha dedicação e torceram por mim. Sou grata ao meu marido Gean Carlos, que me apoiou em todos os momentos, soube compreender quando eu não podia estar presente e me deu forças para vencer

mais essa etapa da minha vida. Obrigada aos meus queridos amigos que não me permitiram desistir. Essa dissertação também é de todos vocês!

A disponibilidade, confiança e ajuda por parte das minhas orientadoras professoras Dra. Sueli Rodrigues e Dra. Thaiz Batista Azevedo Rangel Miguel na orientação deste trabalho;

Aos membros da banca examinadora, que aceitaram o convite para avaliar e colaborar com este trabalho;

E para todos que também merecem, mas por questão de esquecimento não foram mencionados. De certa forma, todos foram responsáveis por essa conquista.

Universidade Federal do Ceará (UFC) – Programa de pós-graduação em Ciências e Tecnologia de Alimentos

Departamento de Ciências e Tecnologia de Alimentos

Laboratório de Biotecnologia (LABIOTEC) – UFC

Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP)

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes)

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)

Instituto Nacional de Frutos Tropicais – INFT (CNPq/FUNCAP)

## RESUMO

Tecnologias emergentes têm sido vastamente estudadas para serem utilizadas como alternativa aos métodos convencionais de processamento, pois desencadeiam alterações na matriz na maioria das vezes positiva e são promissoras na preservação de alimentos e na inativação de microrganismos patogênicos. Embora as tecnologias não térmicas sejam amplamente estudadas na ciência de alimentos os estudos sobre a toxicidade de alimentos expostos ao processamento não térmicos são escassos. O objetivo deste trabalho foi avaliar a toxicidade e o efeito protetor do suco de caju não processado e processado termicamente contra o estresse oxidativo em *Artemia* (*Artemia salina*). Para tanto, foram realizados testes de toxicidade aguda e efeito protetor em suco de caju não processado e processado termicamente frente a náuplios instar II de *A. salina*. As amostras resultantes dos experimentos foram investigadas quanto à mortalidade, enzimas oxidativas e morfologia. Não houve mortalidade de náuplios expostos ao suco de caju não processado e processado por ultrassom. No entanto, as amostras plasmolizadas provocaram mortes a 1000 µg/mL. A amostra processada por ultrassom foi a única amostra que apresentou efeito protetor contra o estresse oxidativo provocado pela exposição dos náuplios ao peróxido de hidrogênio. A maioria das amostras de suco de caju causou danos estruturais aos náuplios. A atividade das enzimas antioxidantes não se alterou significativamente. O resultado da aplicação de tratamentos não térmicos aos alimentos depende da matriz utilizada. Mais estudos são necessários para investigar os produtos gerados pelas tecnologias de processamento não térmico do suco de caju.

**Palavras-chave:** *Artemia salina*; suco de caju; processamento não térmico; toxicidade.

## ABSTRACT

Emerging technologies have been extensively studied to be used as an alternative to conventional processing methods, as they trigger changes in the matrix, most of the time positive, and are promising in food preservation and in the inactivation of pathogenic microorganisms. Although non-thermal technologies are widely studied in food science, studies on the toxicity of foods exposed to non-thermal processing are scarce. The objective of this work was to assess the toxicity and the protective effect of unprocessed and non-thermal processed cashew apple juice against oxidative stress in brine shrimp (*Artemia salina*). For this purpose, acute toxicity and protective effect tests on nonprocessed and non-thermally processed cashew juice on *A. salina* were carried out. Samples resulting from experiments were investigated regarding mortality, oxidative enzymes, and morphology. There was no mortality of nauplii exposed to non-processed and sonicated cashew juice. However, plasmolized samples provoked deaths at 1000 µg/mL-1. Sonicated sample was the only sample that presented a protective effect against hydrogen peroxide stress. Most cashew juice samples caused structural damage to nauplii. Antioxidant enzymes activity did not change significantly. The result of applying nonthermal treatments to food is dependent on the matrix used. More studies are needed to investigate the products generated by cashew juice raw and non-thermal processed technologies.

**Keywords:** *Artemia salina*; cashew apple juice; non-thermal processing; toxicity.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Principais compostos gerados pelo plasma e seus efeitos para a inativação de microrganismos.....	27
Figura 2 - Resumo entre fenômenos físicos e químicos durante a aplicação do ultrassom, que resultam na inativação dos microrganismos.....	31
Figura 3 - Cajueiros ( <i>A. occidentale</i> ) no interior de Pernambuco e o pseudofruto (caju).....	35
Figura 4 - Representação da morfologia de <i>Artemia salina</i> .....	37
Figura 5 - Imagem de uma <i>Artemia salina</i> no estado adulto.....	39
Figura 6 - Resultados do teste de toxicidade aguda utilizando náuplios instar II de <i>Artemia salina</i> em suco de caju <i>in natura</i> em 24 e 48 horas.....	48
Figura 7 - Resultados do teste de toxicidade aguda utilizando náuplios instar II de <i>Artemia salina</i> em suco de caju processado por ultrassom em 24 e 48 horas.....	48
Figura 8 - Resultados do teste de toxicidade aguda utilizando náuplios instar II de <i>Artemia salina</i> em suco de caju processado por plasma a frio á 50Hz em 24 e 48 horas.....	50
Figura 9 - Resultados do teste de toxicidade aguda utilizando náuplios instar II de <i>Artemia salina</i> em suco de caju processado por plasma a frio a 1.000Hz em 24 e 48 horas.....	52
Figura 10 - Resultados do teste de lipoperoxidação utilizando náuplios instar II de <i>Artemia salina</i> em suco de caju <i>in natura</i> e processado por plasma frio (50 e 1.000 Hz) e por ultrassom.....	53
Figura 11 - Resultados do teste de catalase utilizando náuplios instar II de <i>Artemia salina</i> em suco de caju <i>in natura</i> e processado por plasma frio (50 e 1.000 Hz) e por ultrassom.....	55
Figura 12 - Resultados do teste de superóxido desmutase utilizando náuplios instar II de <i>Artemia salina</i> em suco de caju processado por plasma frio (50 e 1.000 Hz) e por ultrassom.....	56
Figura 13 - Resultados do efeito protetivo do suco de caju <i>in natura</i> contra a toxicidade induzida por peróxido de hidrogênio em <i>Artemia salina</i> ...	59

Figura 14 - Resultados do efeito protetivo do suco de caju processado por ultrassom contra a toxicidade induzida por peróxido de hidrogênio em <i>Artemia salina</i> .....	60
Figura 15 - Resultados do efeito protetivo do suco de caju processado por plasma frio à 50Hz contra a toxicidade induzida por peróxido de hidrogênio em <i>Artemia salina</i> .....	61
Figura 16 - Resultados do efeito protetivo do suco de caju processado por plasma frio à 1000Hz contra a toxicidade induzida por peróxido de hidrogênio em <i>Artemia salina</i> .....	63
Figura 17 - Microscopia de luz e eletrônica de varredura de náuplios instar II de <i>Artemia salina</i> em teste de toxicidade aguda do suco de caju não processado (10, 100 e 1000 ppm).....	65
Figura 18 - Microscopia de luz e eletrônica de varredura de náuplios instar II de <i>Artemia salina</i> em teste de toxicidade aguda do suco de caju processado por ultrassom.....	66
Figura 19 - Microscopia de luz e eletrônica de varredura de náuplios instar II de <i>Artemia salina</i> em teste de toxicidade aguda do suco de caju processado por plasma frio (50 e 1000 Hz) .....	67
Figura 20 - Efeito protetor do suco de caju não processado (10, 100 e 1000 µg/mL) contra H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> em náuplios instar II de <i>A. salina</i> em 48 horas de exposição.....	69
Figura 21 - Efeito protetor do suco de caju processado por plasma frio contra H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (10, 100 e 1000 µg/mL-1) em náuplios instar II de <i>A. salina</i> em 48 horas de exposição.....	70
Figura 22 - Efeito protetor do suco de caju processado por plasma frio (50 e 1000 Hz) contra H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> em náuplios instar II de <i>A. salina</i> em 48 horas de exposição.....	71

## **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
PIQ	Padrões de Identidade e Qualidade
US	Ultrassom
PF	Plasma frio
PFPA	Plasma frio à pressão atmosférica
RMN	Ressonância magnética nuclear
CONA	Companhia Nacional de Abastecimento
CL50	Concentração letal média
DL50	Dose letal média
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peróxido de hidrogênio
K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	Dicromato de potássio
CA	Circunferência abdominal
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
HDL	Lipoproteína de alta densidade
HAS	Hipertensão arterial
SOD	Superóxido desmutase
CAT	Catalase
GSH	Glutationa reduzida
GSH-Px	Glutationa-peroxidase
EROS	Espécies reativas de oxigênio
APX	Ascorbato peroxidase

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>15</b>
<b>2</b>	<b>ESTADO DA ARTE.....</b>	<b>17</b>
<b>2.1</b>	<b>Sucos de frutas processados.....</b>	<b>17</b>
2.1.1	Suco de frutas.....	17
2.1.2	Processamentos.....	20
2.1.3	Plasma a frio.....	24
2.1.4	Ultrassom.....	29
<b>2.2</b>	<b>O cajueiro (<i>Anacardium occidentale</i> L.).....</b>	<b>32</b>
<b>2.2</b>	<b>Artemia <i>salina</i> Leach como modelo .....</b>	<b>36</b>
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>41</b>
3.1	Objetivo geral.....	41
3.2	Objetivos específicos.....	41
<b>4</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>42</b>
<b>4.1</b>	<b>Preparo das amostras.....</b>	<b>42</b>
<b>4.2</b>	<b>Processamentos.....</b>	<b>42</b>
4.2.1	Ultrassom.....	42
4.2.2	Plasma a frio.....	42
<b>4.3</b>	<b>Teste de toxicidade aguda utilizando náuplios instar II de Artemia <i>salina</i> como modelo experimental.....</b>	<b>42</b>
<b>4.4</b>	<b>Lipoperoxidação.....</b>	<b>43</b>
<b>4.5</b>	<b>Atividade enzimática.....</b>	<b>44</b>
4.5.1	Preparo de extrato celular para determinação das atividades enzimáticas.....	44
4.5.2	Catalase.....	44
4.5.3	Superóxido dismutase.....	44
<b>4.7</b>	<b>Efeito protetivo dos sucos de frutas (suco de caju) contra a toxicidade induzida por peróxido de hidrogênio em Artemia <i>salina</i>.....</b>	<b>45</b>
<b>4.8</b>	<b>Microscopia.....</b>	<b>45</b>
4.8.1	Microscópio óptica.....	45
4.8.2	Microscopia eletrônica de varredura.....	46
4.8.3	Microscopia eletrônica de transmissão.....	46
<b>4.9</b>	<b>Determinação da CL<sub>50</sub>.....</b>	<b>46</b>
<b>4. 10</b>	<b>Análise estatística.....</b>	<b>46</b>

<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÕES.....</b>	<b>47</b>
5.1.	Resultados da toxicidade aguda do suco de caju em náuplios instar II de <i>Artemia salina</i> processado por ultrassom e plasma frio.....	47
5.2.	Lipoperóxidação.....	53
5.3.	Atividade enzimática.....	55
5.3.1.	Catalase.....	55
5.3.2.	Superóxido desmutase.....	56
5.4.	Efeito protetivo do suco de caju contra a toxicidade induzida por peróxido de hidrogênio em náuplios de <i>Artemia salina</i> .....	58
5.5.	Analise morfológica do ensaio de toxicidade aguda em náuplios instar II de <i>Artemia salina</i> .....	64
5.6.	Analise morfológica do ensaio do efeito protetivo contra a toxicidade induzida pelo peróxido de hidrogênio em náuplios instar II de <i>Artemia salina</i> .....	68
5.7.	Determinação da CL50.....	72
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>73</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>74</b>

## 1. INTRODUÇÃO

Os consumidores atuais têm buscado alimentos mais naturais, ricos em fibras e compostos bioativos, e que ao mesmo tempo ofereçam a praticidade de consumo (CORATO, 2020). Neste contexto, a indústria alimentícia tem impulsionado a produção de vegetais minimamente processados e produtos vegetais prontos para o consumo (PUTNIK *et al.*, 2017).

A obtenção de um produto seguro e de qualidade envolve as boas práticas agrícolas, de manipulação e de processamento (SANT'ANNA *et al.*, 2020). Para isto, a aplicação de métodos tradicionais, como a utilização do cloro para a sanitização e o uso de tecnologias promissoras, é necessária para obter um produto seguro e de qualidade (DE CORATO, 2020).

Nos últimos anos, várias tecnologias de processamento não térmico foram desenvolvidas para satisfazer as necessidades da indústria e do consumidor, tais como ultrassom, alta pressão, processamento ôhmico, luz UV pulsada, plasma frio e ozônio, dentre outras. Os processamentos não térmicos parecem ser menos prejudiciais aos produtos do que os processamentos térmicos, entretanto, seus efeitos variam consideravelmente de uma matriz alimentar para outra (OLIVEIRA *et al.*, 2018).

O processamento por plasma frio é considerado uma tecnologia emergente não térmica, pois seus efeitos são observados mesmo em temperaturas mais baixas que a de pasteurização, portanto, existe uma tendência à utilização destas tecnologias em substituição ou complementação aos tratamentos térmicos, a fim de preservar a composição nutricional dos alimentos (COUTINHO, 2019).

O ultrassom é uma tecnologia considerada segura, não tóxica, não prejudicial ao ambiente e induz a menores perdas de caráter nutricional e sensorial dos produtos, quando comparado aos processos térmicos convencionais. Além disso, existe uma ampla oferta de equipamentos disponíveis no mercado incluindo banhos ultrassônicos e diferentes sondas, que podem ser adaptados a diferentes operações apresentando-se como uma opção a ser explorada pela indústria alimentícia (OJHA *et al.*, 2018).

Embora as tecnologias não térmicas sejam amplamente estudadas na ciência de alimentos os estudos sobre a toxicidade de alimentos expostos ao

processamento não térmicos são escassos e raramente relatam a produção de radicais livres, ou mesmo de produtos tóxicos (ALVES FILHO *et al.*, 2020).

Nesse sentido, apesar dos resultados promissores nas propriedades e na preservação dos alimentos, quando processados por tecnologias não térmicas, pouco se sabe sobre sua toxicidade em sistemas biológicos, fazendo-se necessário estudos de toxicidade aguda (MIGUEL *et al.*, 2021).

O ensaio de toxicidade aguda é a etapa inicial para investigar o potencial tóxico sistêmico de uma substância administrada em única dose (SCANDELAI *et al.*, 2019). Atualmente, um modelo que se destaca no estudo de toxicidade é o microcrustáceo *Artemia salina*, um invertebrado aquático, amplamente utilizado como uma fonte de alimento vivo para alimentar organismos aquáticos (SARKHEIL *et al.*, 2018).

A confiabilidade e a validade dos testes ecotoxicológicos com *Artemia salina* foram confirmadas por diversos testes com diferentes estressores, incluindo nanopartículas (REKULAPALLY *et al.*, 2019), compostos químicos (MORGANA *et al.*, 2018), pesticidas (CRUZEIRO *et al.*, 2017) e farmacêuticos (NUNES *et al.*, 2006).

Embora existam estudos sobre o efeito protetor contra estresse oxidativo de diferentes compostos em *A. salina*, nenhum descreveu o efeito protetor de sucos processados por técnicas não térmicas, fazendo-se necessária a avaliação destas técnicas, a interpretação dos resultados e sua posterior recomendação para uso na indústria alimentícia (MIGUEL *et al.*, 2021).

## 2. ESTADO DA ARTE

### 2.1 Sucos de frutas processados

#### 2.1.1 Suco de frutas

O suco de fruta é uma bebida feita a partir da extração ou prensagem do líquido natural contido nas frutas e legumes. Em países como Reino Unido, Espanha, Áustria, Dinamarca, França, Hungria e Irlanda, uma porção de suco de fruta conta para as recomendações diárias de frutas e vegetais (Science Hub Food-Based Dietary Guidelines in Europe, 1992).

Sabe-se que uma alimentação balanceada e diversificada, com a presença dos principais grupos alimentares é capaz de fornecer uma ampla variedade de nutrientes, indispensáveis à manutenção da vida e promoção da saúde (SANTANA e ALVES, 2022).

A cultura alimentar que compõe o cardápio atual da alimentação do brasileiro é fundamentada em uma mistura de hábitos advindos do início da colonização do país, com a inserção de grande quantidade de espécies provenientes de diferentes regiões geográficas (SILVA *et al.*, 2022).

A fruticultura é uma atividade tradicional da agricultura brasileira e que desonta com significativa importância econômica e social, uma vez que é responsável pela geração de inúmeros empregos ao longo de toda a cadeia produtiva, bem como pela oferta de alimento relacionado ao bem-estar e qualidade de vida, visto que as frutas são fonte de vitaminas e nutrientes indispensáveis à dieta humana (CARDOSO, 2020).

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de frutas, com 40 milhões de toneladas (ABRAFRUTAS, 2021). As frutas por serem perecíveis passam pelo processo de deterioração rapidamente, dificultando sua comercialização, especialmente a longas distâncias (LIMA *et al.*, 2018). O consumo de frutas por adultos teve aumento significativo no período de 2006-2018 no percentual de consumo regular de frutas no Brasil (SILVA e CLARO, 2019).

Entretanto nota-se significativa diferença nas quantidades adquiridas quando se trata da situação de domicílio, em que a população urbana adquire

aproximadamente 27,69 quilos de frutas per capita ao ano e a população rural 19,02 quilos, bem menos que a média nacional (IBGE, 2022).

A flora brasileira possui mais de 40.000 espécies vegetais ricas em fitoquímicos. Frutos fontes de antioxidantes fenólicos, flavonoides, polissacarídeos, vitamina C e os terpenos, com alto potencial para produzir conhecimento e produtos com valor agregado útil em fitomedicina e suplementos alimentares para prevenir e tratar diversos tipos de doenças (CARVALHO e CONTE-JUNIOR, 2021).

A área cultivada com frutas corresponde a aproximadamente 3 milhões de hectares e a produção brasileira é em especial aplicada ao mercado interno, com exportação de apenas 3% de sua produção. Existe uma vasta variedade na produção de frutas no Brasil, isso porque as culturas estão espalhadas por todo o país, onde as frutas são comumente consumidas em sua forma natural ou processada (LEITE FILHO *et al.*, 2020).

Frutas que apresentam a coloração variando do vermelho ao azul são importantes fontes de compostos fenólicos em dietas alimentares devido à presença das antocianinas (CASSIDY, 2017). As antocianinas são capazes de trazer benefícios à saúde de diversas maneiras, como por exemplo, capturando radicais livres e diminuindo lesões oxidativas que podem desencadear doenças crônicas degenerativas (LIMA *et al.*, 2008).

Estudos confirmaram que a prevenção de doenças degenerativas está associada ao consumo de frutas que indicam elevada capacidade antioxidante, e ainda, reforçam que os mesmos são de grande interesse pela capacidade de absorver radicais livres e assim impossibilitar reações oxidativas (VERRUCK *et al.*, 2018; BOMBANA *et al.*, 2021).

Ao longo dos últimos anos nota-se a crescente importância dada pelos consumidores à qualidade nutricional dos alimentos, principalmente frutas *in natura*, o que tem incentivado o mercado a apresentar diferentes possibilidades de produtos (CARDOSO, 2020).

Segundo o mesmo autor, neste sentido, destaca-se a importância da realização de estudos de mercado que analisem as preferências dos consumidores e fatores relacionados à aquisição de produtos, como maneira de fornecer subsídios para aplicação de políticas públicas e estratégias de marketing. Pallant *et al.* (2020) ressaltam a importância da participação do consumidor na personalização de

produtos, experiências e serviços, como forma de impulsionar a comercialização e uso.

No Brasil, o controle das bebidas à base de frutas é realizado tendo como referência os Padrões de Identidade e Qualidade (PIQ), definidos pelo MAPA, que indicam as características físicas, químicas e organolépticas específicas para cada tipo de produto (NOGUEIRA *et al.*, 2020).

Seguindo uma tendência mundial, a indústria aposta em uma maior demanda por produtos saudáveis, que beneficia o consumo de sucos no Brasil (VENTURINI FILHO, 2018; MAIA *et al.*, 2019).

O consumo de sucos de frutas tem aumentado continuamente em função do valor nutritivo e dos efeitos benéficos para a saúde, ocorrendo uma crescente comercialização desses produtos no mercado internacional (CHOI *et al.*, 2019). Apresenta destaque especial as bebidas não carbonatadas, como os sucos de fruta, que tem chamado a atenção de consumidores de refrigerantes nos últimos anos (VASILAKI *et al.*, 2019).

Neste sentido, com o crescimento do consumo de sucos de frutas, o mercado fica mais competitivo, o que leva o consumidor a exigir cada vez mais características de qualidade. Além da sua composição benéfica à saúde, os aspectos sensoriais são muito importantes para a aceitação do produto (MAGRO, 2020).

Segundo o mesmo autor, os sucos com aroma e sabor pronunciados, boa aparência e coloração, são características fundamentais de qualidade. Porém, algumas propriedades dos sucos, como a sua composição rica em polissacarídeos, podem influenciar o rendimento produtivo, bem como sua qualidade, podendo este fator estar diretamente ligado com a aceitação do produto.

As polpas de frutos são amplamente utilizadas como matérias primas pela indústria de alimentos para elaboração de vários produtos, dentre estes os para sucos desta categoria estão: abacaxi, a acerola, o caju, a goiaba, a manga, o maracujá e a pitanga. As frutas são constituídas de água, carboidratos, proteínas, vitaminas e sais minerais (ABIR, 2019).

Com o intuito de garantir a homogeneidade e a segurança dos consumidores, o Ministério da Agricultura elaborou a Instrução Normativa Nº1, de 07 de janeiro de 2000, com atualização por meio da Instrução Normativa nº 49, de 26 de setembro de 2018 (BRASIL, 2018) com parâmetros analíticos e quesitos complementares aos Padrões de Identidade e Qualidade (PIQ's) de diferentes polpas

de frutas, abordando características organolépticas, físicas, químicas, microscópicas e sanitárias, e estabelecendo limites mínimos específicos para cada polpa de fruta.

Os perigos biológicos são: a contaminação, o crescimento e/ou sobrevivência dos microrganismos patogênicos e deteriorantes dos alimentos, e/ou a produção ou persistência de produtos do metabolismo microbiano. Os perigos microbiológicos são responsáveis por, aproximadamente, 97% dos casos de contaminação e vêm ao encontro aos relatos de surtos de toxinfecção. (PERERA e PERERA, 2019).

Os sucos de frutas são bebidas não fermentadas obtidas de frutas maduras por processamento tecnológico adequado que devem ser submetidas a tratamento de conservação que assegurem sua qualidade nutricional e microbiológica até o momento do consumo (BRASIL, 2009).

Além disso, algumas tecnologias emergentes no processamento mínimo podem ser aplicadas de acordo com a escala de maturidade tecnológica e custo operacional, como alta pressão, aquecimento ôhmico, infravermelho, irradiação, plasma frio, pulso elétrico, ultrassom, a emissão de raios na faixa ultravioleta (SENAI, 2019).

Segundo o mesmo autor, o uso destas técnicas tem o intuito de permitir que o produto chegue ao consumidor de maneira adequada para o consumo, sem a degradação das suas características naturais e com inativação de algumas enzimas que podem causar alterações.

### **2.1.2 Processamentos**

A qualidade dos alimentos é uma concepção que vem sendo disputada pelos diferentes atores que integram os sistemas agroalimentares, desde produtores até consumidores, os quais carregam distintos interesses e capacidades de influenciar o ambiente institucional, no qual se estabelecem critérios de qualidade que são, de modo preponderante, vinculados a aspectos sanitários e de aparência (RAMOS *et al.*, 2021).

Os padrões alimentares no Brasil e no mundo sofreram modificações nas últimas décadas, marcadas pela redução do consumo de alimentos *in natura* ou minimamente processados, como legumes, verduras e frutas. Em contrapartida,

observa-se aumento do consumo de alimentos ultra processados, como embutidos, refrigerantes e alimentos congelados (CATTAFESTA *et al.*, 2020).

Devido a essa mudança nos padrões alimentares, a classificação dos alimentos de acordo com o seu grau de processamento se torna uma ferramenta essencial para a verificação de fatores relevantes a esse processo de transição (MONTEIRO *et al.*, 2019).

Deste modo, Monteiro e colaboradores propuseram a classificação NOVA, que categoriza alimentos e produtos alimentícios em quatro grupos, conforme a extensão e a finalidade do processamento industrial a que são submetidos (MONTEIRO *et al.*, 2016).

Os alimentos são classificados em quatro grupos: alimentos *in natura* ou minimamente processados, ingredientes culinários processados, alimentos processados e alimentos ultra processados (MONTEIRO *et al.*, 2016). Alimentos *in natura* são obtidos diretamente de plantas ou animais e adquiridos sem sofrer alteração após deixarem a natureza (MONTEIRO *et al.*, 2019).

Minimamente processados são alimentos *in natura* submetidos a procedimentos como limpeza, remoção de partes não desejadas, trituração e embalagem (MONTEIRO *et al.*, 2019). Os alimentos ultra processados, por sua vez, são formulações industriais, muitas vezes prontas para consumo, que apresentam cinco ou mais ingredientes em sua composição (MONTEIRO *et al.*, 2016).

Danos aos alimentos por micróbios patogênicos causam perdas econômicas generalizadas. Algumas das bactérias nocivas mais frequentemente detectadas em alimentos causam doenças. Em alguns casos, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* spp., são os principais micróbios que causam a morte em humanos (TIMMONS *et al.*, 2018).

Várias estratégias, como tratamento com cloro, ácido ascórbico e ácido cítrico, têm sido usadas para descontaminação de alimentos, mas são menos eficazes, pois reduzem o pequeno número de patógenos (PRASAD *et al.*, 2017).

O processamento térmico é a abordagem mais utilizada para a preservação de alimentos para controlar patógenos e microrganismos que provocam deterioração de alimentos. Embora o tratamento térmico tenha inúmeras desvantagens, como alterações na aparência, danos na textura, alterações no sabor e nas qualidades sensoriais e redução das características nutricionais, esses são fatores essenciais para o consumidor (SRIVASTAV *et al.*, 2020).

As pesquisas têm avançado no sentido da utilização de tecnologias que alterem o mínimo possível as características originais (sabor, cor, aroma e composição nutricional) dos alimentos e que mantenham as propriedades benéficas dos produtos e atendam a todas as demandas dos consumidores, resultando na obtenção de produtos com valor aumentado e despertando novas expectativas para a agricultura e para a indústria (BINOTI e RAMOS, 2015).

A contaminação dos alimentos ocorre durante os diversos processos aos quais os alimentos são expostos antes de chegarem ao consumidor. Portanto, diferentes métodos de descontaminação que não causam danos aos alimentos têm sido relatados nos últimos anos, são eles: plasma frio (CP), aquecimento dielétrico (radiofrequência e aquecimento por micro-ondas), processamento de alta pressão (HPP), infravermelho (IR), aquecimento ôhmico, processamento de ozônio, campo elétrico pulsado (PEF), luz pulsada (PL), e ultrassom dentre outros (SRIVASTAV *et al.*, 2020).

Portanto, essas tecnologias emergentes têm o desafio de manter a qualidade dos produtos, já que o processamento térmico tradicional causa impactos negativos (DJEKIC *et al.*, 2018).

O desenvolvimento de tecnologias verdes no setor de fabricação de alimentos é particularmente relevante com o objetivo de converter agro-matérias-primas em produtos alimentícios com a qualidade desejada e propriedades funcionais, aumentando a eficiência de fabricação. Além disso, as empresas terão que se manter competitivas em um momento em que as demandas dos consumidores e do governo por desenvolvimento sustentável estão aumentando constantemente (CHEMAT *et al.*, 2017).

Segundo os mesmos autores, os processos não térmicos reconhecidos como tecnologias de valor agregado ganharam importância nas últimas décadas como alternativas sustentáveis ao processamento convencional de alimentos por meio da redução direta do consumo de energia e água durante o processamento, mas também pela redução do impacto da energia durante o armazenamento.

As tecnologias emergentes são consideradas uma maneira eficaz de otimizar o uso de recursos naturais, economizando energia e reduzindo custos na indústria de alimentos, sendo consideradas uma alternativa viável em relação às técnicas convencionais de processamento e conservação. Dentre estas tecnologias encontra-se o ultrassom (US), o qual consiste na utilização de energia acústica para promover

modificações na estrutura dos alimentos e, por isso, a indústria vem mostrando cada vez interesse na aplicação desta tecnologia (BARRETO *et al.*, 2018).

Novas técnicas não térmicas estão provando serem mais econômicas em termos de energia, ecológicas e eficientes para a qualidade do produto e segurança microbiana (MANZOOR *et al.*, 2019). Mas novas tecnologias (campo elétrico pulsante e ultrassom) requerem energia operacional muito baixa e aceleram os processos (SIDDEEG *et al.*, 2019), melhoram a qualidade dos produtos e eliminam ou reduzem impactos desfavoráveis no meio ambiente (ZHANG *et al.*, 2019).

A qualidade dos sucos processados depende das propriedades físico-químicas (acidez, pH, sólidos solúveis, açúcares, cor, viscosidade e vitamina C) e das características microbiológicas e sensoriais (FREITAS, 2019).

Segundo o mesmo autor, para agradar o consumidor e serem considerados de boa qualidade, estes produtos devem apresentar atributos sensoriais e nutricionais semelhantes ao do produto *in natura*. A instrução normativa Nº 37, de 1º de outubro de 2018, do ministério da agricultura, pecuária e abastecimento (MAPA), fixa os parâmetros analíticos e quesitos complementares aos padrões de identidade e qualidade de sucos de frutas.

Atualmente, ultrassom e o campo elétrico pulsado estão sendo usados para a preservação de frutas e sucos de vegetais (KHANDPUR e GOGATE, 2016). As ondas sonoras podem inativar microrganismos e enzimas por meio da quebra ou desnaturação de estruturas proteicas (CINTAS, 2016).

Segundo os mesmos autores, certos microrganismos podem ser utilizados como indicadores de contaminação e de falha nas práticas de higiene e sanitização durante os processos de produção, manipulação, transporte e armazenamento dos alimentos.

A tecnologia de ultrassom é sustentável em si é uma tecnologia rápida, de baixo custo, não térmica, não destrutiva, com muitas vantagens: processos rápidos, eficiência aprimorada do processo, eliminação de etapas do processo, produto de melhor qualidade e retenção do perfil volátil, qualidade sensorial e estética características dos produtos alimentícios, levando a uma melhor vida de prateleira (ALENYOREGE *et al.*, 2019).

### 2.1.3 Plasma frio

O interesse em tecnologias que forneçam produtos ricos em compostos bioativos aumenta muito porque podem melhorar a saúde e o bem-estar dos consumidores. O processamento não térmico de alimentos com o auxílio da tecnologia de plasma parece ser uma das soluções mais promissoras, recentemente estudadas, que, por um lado, podem aumentar a vida útil dos produtos sem empobrecer sua composição química (MUNEKATA *et al.*, 2020).

O termo plasma foi introduzido por um físico americano, Irving Langmuir, pela primeira vez em 1928 para se referir a um gás ionizado quase neutro. É considerado como o quarto estado físico da matéria, juntamente com os outros: sólidos, líquidos e gases. Suas partículas incluem elétrons, íons, radicais livres, átomos e moléculas em seus estados fundamentais (SHEIKHI *et al.*, 2020).

Segundo os mesmos autores, esse processo de ionização faz com que esses gases se tornem condutores de eletricidade, pois é fornecida energia sob tipo, vazão, frequência e pressão adequados ao processo. Este gás, eletricamente condutor e ionizado, chamado plasma, não possui forma nem volume definido, e tem densidade menor que os gases correspondentes.

O plasma frio (PF) é classificado como plasma não térmico (plasmas fora do equilíbrio) e plasma térmico (plasmas próximos do equilíbrio). Os plasmas térmicos são caracterizados por elétrons de alta temperatura e partículas densas, enquanto os plasmas frios são compostos de elétrons de temperatura relativamente alta e partículas de baixa temperatura (FARBER *et al.*, 2019).

Em plasmas não térmicos, diferentes temperaturas podem ser alcançadas para diferentes espécies de plasma, principalmente em torno da temperatura ambiente. O plasma não térmico usa energia de forma mais eficiente para obter melhor seletividade química. Em plasmas não térmicos, a temperatura do elétron governa a ionização e os processos químicos (ANANTHANARASIMHAN *et al.*, 2019).

O plasma está em um estado meta estável com uma carga elétrica líquida aproximadamente zero (MISRA *et al.*, 2018). Apenas plasma não térmico (frio) é aplicado a produtos alimentícios (FERNANDES e RODRIGUES, 2021).

O uso crescente, ainda em fase de testes laboratoriais, de plasma frio à pressão atmosférica (PFPA) em sucos de frutas e vegetais é considerado na literatura relevante como o processo não térmico de intervenção emergente que pode preservar

as propriedades funcionais dessas bebidas diárias, mantendo sua qualidade e segurança (PUTNIK *et al.*, 2019).

O plasma origina-se a partir de elétrons, que através da ionização produzem a excitação atômica ou molecular, dissociação e produção de estados moleculares radicais e metaestáveis formando, com isso, um meio gasoso ativo que pode ser utilizado de forma segura, sem provocar danos aos meios que o circunda (SUROWSKY *et al.*, 2015; MISRA *et al.*, 2015).

A tecnologia de PF ganhou muito interesse da comunidade científica de ciência e tecnologia de alimentos nos últimos 10 anos. Desde as primeiras pesquisas sobre a aplicação do plasma no processamento de alimentos, essa tecnologia emergente tem mostrado grande potencial na indústria alimentícia (FERNANDES e RODRIGUES, 2021).

Os primeiros estudos com PF focaram na sanitização de diversos produtos alimentícios (STAREK *et al.*, 2019). Esses estudos comprovaram que o PF era uma tecnologia adequada para sanitização e, aparentemente, nenhuma mudança significativa foi observada nos aspectos físicos ou sensoriais dos produtos alimentícios.

Até meados da década de 2010, muitos cientistas afirmavam que o PF não induzia qualquer alteração na qualidade nutricional dos alimentos. No final da década de 2010, o conhecimento do PF evoluiu. Muitos estudos mostraram que o PF mudou a qualidade nutricional dos produtos alimentícios, mas essas mudanças foram principalmente para melhorar a qualidade dos alimentos (CAMPELO *et al.*, 2020).

Diversas frutas e sucos de frutas têm vida útil curta, e a preservação e sanitização desses produtos foram escopos de diversos estudos desde o início. A maioria dos estudos se concentrou na preservação de frutas inteiras, como tomates, mirtilos, morangos e outros (HOU *et al.*, 2019; STAREK *et al.*, 2019). Muitos artigos e revisões publicaram uma quantidade significativa de informações e conhecimentos sobre inativação microbiana e preservação da vida útil (GAVAHIAN e KHANEGHAH, 2019).

Há três mecanismos básicos desencadeados pelo plasma que contribuem para a inativação microbiana: (a) interação química entre a superfície celular e os radicais, espécies reativas ou partículas carregadas; (b) dano à membrana celular e componentes internos, por radiação UV; e (c) destruição de material genético através do UV formado durante a recombinação de espécies (COUTINHO *et al.*, 2018).

O plasma não térmico pode ser formado por fontes de energia elétrica, de micro-ondas e de radiofrequência que geram uma alta diferença de potencial elétrico entre dois ou mais eletrodos. Dentre todas as tecnologias utilizadas para formar PF, o plasma de barreira dielétrica (DBD), o plasma a jato e o plasma de descarga luminosa são as tecnologias mais estudadas para aplicação com frutas e sucos de frutas (BEVILACQUA *et al.*, 2018).

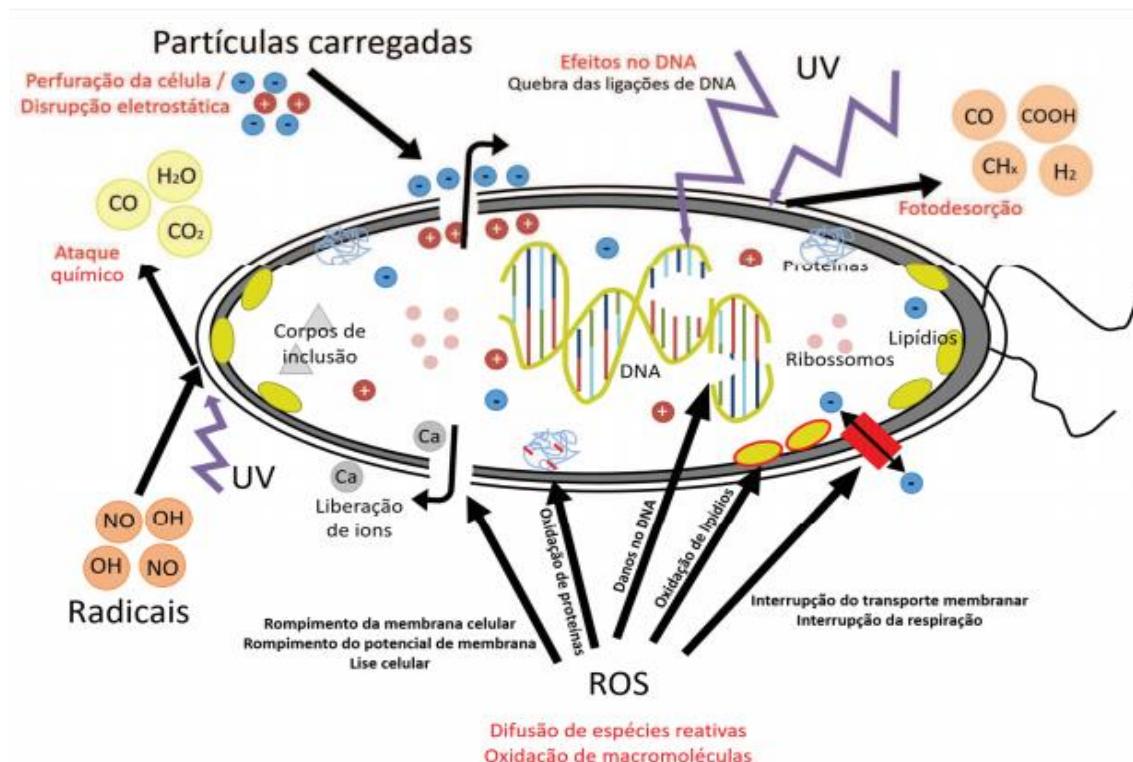
O principal efeito do PF nas células bacterianas, fúngicas ou de esporos está relacionado à interação das espécies reativas do plasma com os componentes celulares, como membranas celulares ou revestimento de esporos (BERMUDEZ-AGUIRRE, 2020).

Entre as vantagens do PFPA estão a geração de espécies reativas à pressão atmosférica sem equipamentos caros de vácuo, geração seletiva de espécies reativas a depender da escolha do gás de trabalho, geração eficiente de espécies reativas em ambientes líquidos e alta eficiência de inativação por parte dos radicais (LEE *et al.*, 2015).

Liao e colaboradores (2017) mostraram que, conforme estudos anteriores, os mecanismos de inativação microbiana por plasma não-térmico têm efeitos biológicos e físicos (Figura 2).

Embora o mecanismo não tenha sido totalmente compreendido até o momento, sabe-se que seus principais efeitos são devidos a: fotodesorção, erosão, ataque químico, perfuração da membrana, disruptura eletrostática, oxidação de macromoléculas, difusão de espécies reativas e efeitos danosos ao DNA (SCHLÜTER e FRÖHLING, 2014).

Figura 1 - Principais compostos gerados pelo plasma e seus efeitos para a inativação de microrganismos



Fonte: Adaptado de Schlüter; Fröhling (2014, p. 22).

A radiação UV, com fótons emitidos pelo plasma, é capaz de destruir o material genético dos microrganismos, quebrando as bases das fitas do DNA e impedindo assim a capacidade das células se replicarem. Porém, o efeito mais comprovado da emissão UV foi através de plasma a baixa pressão, enquanto o UV do PFPA tem efeitos mais reduzidos (HERTWIG *et al.*, 2018).

A inativação de enzimas em produtos alimentícios pela aplicação do PF tem sido estudada, já que a redução da atividade enzimática pode evitar o escurecimento e problemas no processamento e armazenamento desses produtos. As principais enzimas endógenas responsáveis pelo escurecimento são: PPO (polifenoloxidase) e POD (peroxidase) (THIRUMDAS *et al.*, 2015).

Com a aplicação do plasma com presença de campos elétricos e geração de espécies reativas, ocorre uma interação com os aminoácidos, que impede as enzimas de atuarem em seus substratos e/ou nas coenzimas de ligação, causando uma catálise devido às alterações de conformação em torno do centro ativo (THIRUMDAS e ANNAPURE, 2020).

Estudos com PF em suco de maçã turvo mostraram inativação significativa da POP (ILLERA *et al.*, 2019). Ao contrário, a aplicação dessa tecnologia em sucos de frutas também afeta o teor de compostos bioativos, com aumento ou redução dependendo das condições empregadas no processo (PAIXÃO *et al.*, 2018).

O tempo de processamento também foi significativo para Khani *et al.* (2017), que observaram que o plasma causou inativação da POD do tomate em mais de 90%; já para Illera *et al.* (2019), em análise de sucos de maçã, houve uma redução significativa da atividade da enzima PPO com o aumento do tempo de processo.

A qualidade nutricional de várias polpas e sucos melhorou com o processamento a PF. Alguns estudos mostraram que a capacidade antioxidante, o teor de fenólicos totais e o teor de vitamina C aumentaram após o processamento com PF e que essa tecnologia pode ser utilizada para produzir alimentos mais nutritivos e com melhor bioacessibilidade de nutrientes (ALMEIDA *et al.*, 2017).

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

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

Os autores obtiveram resultados satisfatórios com diminuição significativas de aflatoxinas, com tratamentos de rápida duração e também conseguiu inativar fungos da superfície do amendoim. O tratamento não afetou a qualidade sensorial do alimento (IQDIAM *et al.*, 2019).

Diante desse cenário, tratamentos não-térmicos têm sido explorados como alternativas para garantir a qualidade de alimentos sem modificar as suas propriedades físico-químicas, nutricionais e sensoriais desejadas (BERISTAÍN-BAUZA *et al.*, 2018).

Segundo os mesmos autores, o PFPA pode ser uma opção no processamento de alimentos, já que tem a garantia de manter a temperatura ambiente que a maioria

dos produtos precisa, para evitar que algumas propriedades físico-químicas importantes sejam degradadas.

O tratamento por PF ainda é um processo desconhecido em relação aos efeitos adversos nos alimentos, como por exemplo a oxidação de lipídios (LAROQUE *et al.*, 2022). Alguns dos principais desafios que limitam sua aplicação industrial incluem as alterações das características nutricionais e sensoriais decorrentes da produção de radicais livres, que podem resultar em auto oxidação (NIVEDITHA *et al.*, 2021).

#### **2.1.4 Ultrassom**

A indústria alimentícia tem impulsionado a produção de vegetais minimamente processados e produtos vegetais prontos para o consumo (CORATO, 2020). Ao considerar que frutas e hortaliças são alimentos perecíveis e que podem ser submetidos a diferentes fontes de contaminação, há preocupação na busca pela garantia de qualidade destes alimentos (ALVARENGA *et al.*, 2021).

A obtenção de um produto seguro e de qualidade envolve as boas práticas agrícolas, de manipulação e de processamento (SANT' ANNA *et al.*, 2020). Para isto, a aplicação de métodos tradicionais, como a utilização do cloro para a sanitização e o uso de tecnologias promissoras, é necessária para obter um produto seguro e de qualidade (CORATO, 2020).

O ultrassom (US) considerado como uma tecnologia de processamento de alimentos não térmica ganhou atenção significativa devido à sua capacidade de reter o frescor original, sabor e compostos nutricionais dos produtos, bem como menor consumo de energia, em comparação com procedimentos convencionais como pasteurização (WANG *et al.*, 2020).

O US pode ser empregado na indústria de processamentos de frutas e hortaliças, seja para contribuir na melhoria da qualidade e na segurança dos produtos, seja para potencializar processos já existentes (OJHA *et al.*, 2018).

Recentemente, estudos avaliaram a aplicação do ultrassom em frutas e hortaliças, e em suco de frutas, com resultados positivos nos aspectos sensorial, microbiológico, físico-químico e nutricional (SÃO JOSÉ *et al.*, 2014; WANG *et al.*, 2020, ALVARENGA *et al.*, 2020), indicando este método como tecnologia inovadora, viável, de baixo custo e com resultados desejáveis para a preservação da qualidade (DOLAS *et al.*, 2019).

O US é a simples descrição de uma onda que transporta energia mecânica através da vibração local de partículas em frequências de 20 kHz ou mais. Essa frequência é situada acima do limite audível para o homem, acima de 16 kHz. De modo geral se propaga, em sólidos, líquidos e tecidos (ZHANG *et al.*, 2021).

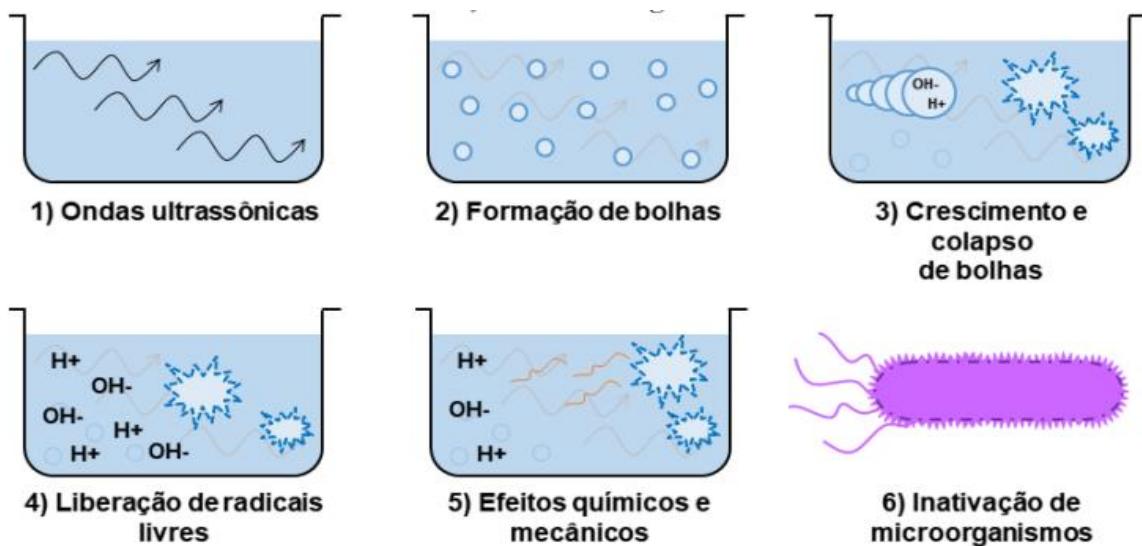
As ondas ultrassônicas (também chamadas de ondas supersônicas) são ondas sonoras na faixa de frequência de 20 kHz a 100 kHz (SINGLA e SIT, 2021). Geralmente, o US de baixa intensidade é considerado uma ferramenta não destrutiva para monitorar as mudanças de compostos físico-químicos durante o processamento de alimentos (WANG *et al.*, 2020).

Quando as ondas de US se propagam em solução, uma série de ciclos de compressão e rarefação são gerados. Durante o ciclo de pressão negativa, quando a força de cisalhamento excede as forças intermoleculares de Van der Waals do líquido, bolhas são geradas na solução (QASIM *et al.*, 2020).

Segundo os mesmos autores, essas bolhas crescem e finalmente entram em colapso, o que é denominado cavitação. O colapso dessas bolhas cria regiões de alta pressão local e temperaturas na solução. Bolhas de cavitação também fornecem área de superfície interfacial adicional para facilitar a nucleação heterogênea primária.

Na Figura 3 é apresentada de forma resumida a combinação entre os fenômenos que ocorrem durante a cavitação. Estes processos proporcionam a liberação de energia mecânica e química (SÃO JOSÉ *et al.*, 2014). Esses fenômenos afetam os microrganismos e provocam morte a partir da ruptura da membrana celular, calor localizado e liberação de radicais livres (LEPAUS e JOSÉ, 2020).

Figura 2 - Resumo entre fenômenos físicos e químicos durante a aplicação do ultrassom, que resultam na inativação dos microrganismos



Fonte: Lepaus e José (2020, p. 79).

O aumento na disponibilidade dos compostos bioativos observado em alguns estudos é atribuído principalmente à liberação do conteúdo intracelular após ruptura pelo processo de cavitação (CAMPOLI *et al.*, 2018).

A tecnologia do US também é estudada com intuito de minimizar os prejuízos causados pela pasteurização nas propriedades físico-químicas, nutricionais e nos compostos bioativos de sucos (OJHA *et al.*, 2018).

O uso combinado de US e calor (termossonicação) tem sido empregado como substituto ao tratamento térmico em suco de frutas, pois oferece menor dano à bebida, sendo esta considerada de boa qualidade nutricional e sensorial (ANAYA-ESPARZA *et al.*, 2017a).

MARTÍNEZ-FLORES *et al.* (2015) e JABBAR *et al.* (2014) mostraram efeito positivo no uso da termossonicação em sucos quando comparado ao tratamento térmico, com o aumento do teor de carotenóides, vitamina C e polifenóis. Além de oferecer vantagens em termo de produtividade e rendimento, é considerada uma tecnologia “amiga do ambiente” por oferecer menor gasto de energia e água, contribuindo para o desenvolvimento sustentável (CAO *et al.*, 2018).

O processo de termossonicação tem sido eficaz devido a um “efeito aditivo” causado pela combinação de calor e cavitação. Este efeito, ou choque térmico,

aumenta a região de letalidade bacteriana e inativação enzimática. O calor e ondas sonoras agem simultaneamente aumentando a sensibilidade nas paredes das células bacterianas, podendo ocorrer danos na estrutura celular (ANAYA-ESPARZA *et al.*, 2017a).

Contudo, quando essa temperatura é muito elevada, geralmente maior que 55 °C, este “efeito aditivo” pode não acontecer, isso porque altas temperaturas podem prejudicar a formação de grandes bolhas durante a cavitação (ANAYA-ESPARZA *et al.*, 2017b).

O efeito da pasteurização térmica e do US em produtos vegetais foram comparados por CAO e colaboradores (2018) em suco de bayberry e por Etzbach e colaboradores (2019) em pasta de goldenberry (*Physalis peruviana L.*).

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

Santos, Rodrigues e Fernandes (2018) observaram melhoramento da estabilidade e aumento do conteúdo de vitaminas em suco de acerola processado por US. A homogeneidade do suco, medida pelo valor de nuvem, foi melhorada em todas as condições de processamento aplicadas e não foi observado separação de fase, problema comum em sucos de fruta não processados.

Os resultados após o tratamento com o US dependem, além do tipo de microrganismos, de diversos fatores. As condições de operação (tempo, temperatura e amplitude das ondas ultrassônicas) poderão interferir nos resultados. Fatores como o volume e composição do alimento tratado também podem interferir na eficiência da operação (JAMBRAK *et al.*, 2018).

## **2.2 O cajueiro (*Anacardium occidentale L.*)**

O cajueiro, cujo nome científico é *Anacardium occidentale L.*, pertence à família Anacardiaceae é uma espécie arbórea com troncos tortuosos, de origem botânica do norte e nordeste do Brasil (FAO, 2020). O caju possui o sabor suculento e ácido da

polpa de pseudofruto, é utilizada como matéria-prima na fabricação de sucos, doces, licores, chás e bebidas na região em que ocorre (OLIVEIRA, 2019).

Dentre as espécies da família *Anacardiaceae*, apenas a *Anacardium occidentale* é cultivada comercialmente e compreende os tipos precoce e comum. O cajueiro-comum possui maior potencial produtivo individual, porém os pomares de cajueiro precoce têm uma maior produtividade, pois permite o plantio de um maior número de plantas por hectare (ICB, 2020; MARTINS *et al.*, 2019).

Além disso, espécies desta família se caracterizam por apresentar hábito de vida arbóreo, arbustivo, raramente subarbustivo, grandes nervuras nas folhas, frutos drupas, sâmaras ou bagas, inflorescência terminal ou axilar, e flores actinomórficas, unissexuais ou bissexuais (SILVA-LUZ *et al.*, 2019).

Os frutos e pseudofrutos de muitas espécies constituem um importante recurso alimentar, como por exemplo o cajueiro (*Anacardium occidentale* L.), mangueira (*Mangifera indica* L.), pistache (*Pistacia vera* L.) e umbuzeiro (*Spondias tuberosa* Arruda) (FYFE *et al.*, 2020).

Uma revisão de literatura mostrou que o cajueiro (*A. occidentale*) tem um potencial medicinal significativo pois contém metabólitos secundários responsáveis por efeitos terapêuticos. Na medicina popular suas indicações simbolizam riqueza de viabilidade para ações farmacológicas e tratamentos alternativos, que envolvem que envolvem processos inflamatórios, infecciosos e cicatrizantes (NOVAES e NOVAES, 2021).

Também é possível constatar que há estudos na literatura que corroboram com a ideia de que existe relação entre o uso popular do cajueiro por diferentes populações e seu potencial biológico. Além de tudo, torna-se evidente que a mesma se apresenta como um vegetal ampla aplicabilidade para a farmacologia (ARAÚJO *et al.*, 2020).

As folhas do cajueiro são bastante utilizadas pela medicina em todo o mundo, seus extratos estudados já comprovaram diversas eficácia no tratamento de doenças e inibição da proliferação de microrganismos, como fungos e bactérias (SILVA e LOPES, 2020).

Segundo os mesmos autores, no Brasil a parte aérea do cajueiro (folhas) não tem merecido seu real destaque, visto que a maioria dos produtores agrícolas consideram as podas das árvores como sendo um rejeito, uma vez que a indústria não tem dado a relevante importância das suas propriedades e aplicações.

É importante conhecer os rendimentos extrativos e condições operacionais de extração que maximizem a recuperação dos extractos presentes nas folhas do cajueiro, bem como sua composição química, de modo a fornecer dados para o desenvolvimento de novos produtos, como por exemplo, fitoterápicos (LEMOS e GALVÃO, 2019).

Inicialmente, Durante a 2<sup>a</sup> Guerra Mundial, surgiu um grande interesse industrial pelo cajueiro devido ao líquido da casca da castanha-de-caju com casca (LCC). Com o fim da guerra, em 1945, o interesse da economia passou a ser a ACC, iniciando, assim, um crescimento significativo da agroindústria de caju (SECA, 2020).

O cajueiro é uma árvore sempre-verde que cresce a uma altura de 8 a 20 m, dependendo das características do solo e do clima. Normalmente começa a florir no terceiro ano, atingindo a produção total no oitavo ano (FAO, 2020).

O pedúnculo, seu pseudofruto, é chamado de caju, e apresenta coloração variada em tons de amarelo a vermelho. Junto a ele, tem-se a amêndoia da castanha de caju que, em seu interior, armazena a castanha. O caju e a castanha são apreciados na culinária nordestina, tanto *in natura* quanto em outros produtos alimentícios (NOVAES e NOVAES, 2021).

Durante o seu desenvolvimento, a planta possui inflorescência do tipo panícula (com surgimento no ápice dos ramos) caracterizada por formato piramidal, com cacho terminal e suas ramificações vão decrescendo da base para o ápice que contêm flores masculinas e hermafroditas em proporções variadas, produzidas na periferia da copa, onde se encontram dois tipos de flores: hermafroditas ou perfeitas e masculinas ou estaminadas (ADIGA *et al.*, 2019).

O consumo do pedúnculo de caju é bastante apreciado devido ao seu aroma e sabor peculiares, sendo vastamente aceito pelos consumidores. Além disso, o caju tem se destacado devido aos avanços nas descobertas sobre as propriedades farmacológicas, como atividade antimicrobiana e antimutagênica, ação anti-inflamatória e prevenção da obesidade e diabetes (CARVALHO *et al.*, 2020).

Figura 3 - Cajueiros (*A. occidentale*) no interior de Pernambuco e o pseudofruto (caju)



Fonte: Novaes e Novaes (2021, p. 2).

O caju corresponde a cerca de 90% do peso total do fruto e pode ser consumido diretamente ou processado como sucos, cajuína e doces. A produção mundial de caju em 2019 foi de 1,32 milhão de toneladas e o Brasil participou com 81,4% desse volume, seguido por Mali (12,7%) e Madagascar (5,9%) (FAOSTAT, 2022).

A castanha de caju é uma das quatro nozes mais conhecidas no mundo, conhecidas por sua elevada importância nutricional e sabor inimitável. Como parte de uma dieta saudável e equilibrada, a castanha de caju pode modular o risco de doenças cardiovasculares, incluindo acidente vascular cerebral e síndrome metabólica (LIU *et al.*, 2018a).

Um estudo anterior avaliou os efeitos da dieta juntamente com subprodutos industriais, como a fruta do caju na saúde intestinal e no metabolismo lipídico de ratos com dislipidemia induzida pela dieta (BATISTA *et al.*, 2018).

O cultivo do caju e a comercialização de suas amêndoas são realizados em 32 países, com destaque para Vietnã, Índia, Brasil e Indonésia (OLUYOLE *et al.*, 2017). No Brasil, estas atividades vêm sendo realizadas em regiões de clima quente e seco (MELO *et al.*, 2018), sendo o Ceará, Piauí e Rio Grande do Norte os estados responsáveis por 90,58% da produção nacional de caju no ano de 2020 (IBGE, 2022).

De acordo com a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2019), no último relatório divulgado no mês de agosto de 2019, pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), estima-se que a produção seja de 122,6 mil toneladas

de castanha de caju *in natura*, uma redução de 13,2 % na comparação com o ano anterior, quando a produção foi de 141,3 mil toneladas.

No Brasil, em 2019, houve um aumento de 39,9% de exportações da castanha de caju principalmente para os EUA e Canadá, enquanto o pedúnculo fica concentrado no comércio interno e local brasileiro, (ICB, 2020).

Nesses países, o produto é processado e uma parte deste produto é destinada para consumo interno e outra parte para reexportação, ou seja, a castanha é vendida para outros países, inclusive o Brasil, tornando o Vietnã e a Índia os maiores exportadores mundiais de amêndoas da castanha do caju (BRAINER e VIDAL, 2020).

A riqueza em proteínas (21%), carboidratos (25%), ácidos graxos monoinsaturados (48%), minerais, vitamina B e tocoferóis comprova a importância econômica e social das amêndoas de caju em escala global (BHOOMIKA e SUDHA, 2018; OLGA *et al.*, 2018; OLUBODE *et al.*, 2020). Além disso, o caju também possui alto teor de triterpenóides e fenólicos, o que desempenha um papel importante na inibição de bactérias causadoras de gastrite em humanos (SALEHI *et al.*, 2020).

### **2.3 *Artemia salina* Leach como modelo experimental**

O estudo toxicológico é de grande importância para assegurar o uso de determinado material biológico, além de permitir informações sobre suas potencialidades, uma vez que a partir deste tipo de estudo pode-se obter informações quanto à atividade bioativa de determinado material (RAHMAN e PRATAMA, 2019).

Segundo os mesmos autores, a RDC Nº 243, de 26 de julho de 2018, substância bioativa é definida como “nutriente ou não nutriente consumido normalmente como componente de um alimento, que possui ação metabólica ou fisiológica específica no organismo humano”. A toxicidade é definida como a capacidade de determinado composto tender a causar uma desordem biológica e/ou até a morte de um organismo teste.

A *Artemia salina* (*A. salina*) é um microcrustáceo de água salgada utilizado como alimento vivo para peixes, podendo ser encontrada facilmente em lojas especializadas. Este ensaio é rotineiramente utilizado para se detectar potencial biológico a partir da análise da toxicidade de extratos e compostos, por se tratar de um bioensaio simples e de baixo custo (ISLAM *et al.*, 2019).

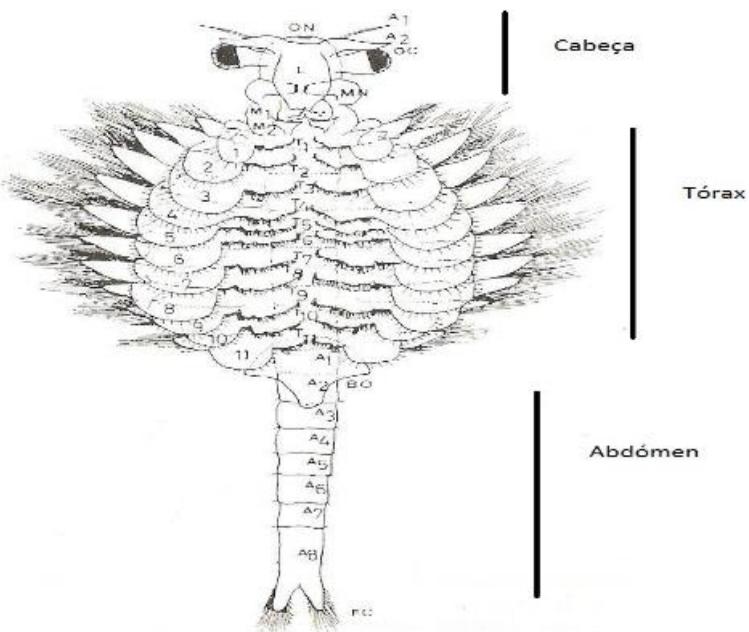
Através desse ensaio é obtida a concentração letal média (CL50), que é à concentração de um produto químico no ar ou na água que leva à morte de 50% de uma população em teste num tempo pré-estabelecido, sendo consideradas tóxicas as substâncias que apresentarem valores de CL50 abaixo de 1000 µg/mL (MARTINS et al., 2021).

No ambiente marinho, o zooplâncton forma um importante depositário de organismos que ajudam a canalizar o fluxo de energia através da cadeia alimentar (OZKAN et al., 2016). Entre vários zooplântons, *A. salina* foi escolhido como o organismo de teste devido ao seu comportamento de alimentação por filtro não seletivo e alta capacidade reprodutiva (GUTNER-HOCH et al., 2019).

*Artemia* é um gênero que pode sobreviver em altas taxas de salinidade (4,5-340%) pertencente à família Artemiidae (GBIF, 2019). Ele pode sobreviver e melhorar, especialmente em um ambiente hipertônico, e pode ser encontrado em todo o mundo. É um dos poucos organismos que podem sobreviver nos lagos de água salgada do mundo com microalgas e bactérias (JOHARI et al., 2019; SELLAMI et al., 2020).

Este organismo apresenta um ciclo biológico complexo que começa com a incubação de cistos dormentes. A hidratação deve causar incubação dentro de 48 horas, iniciando a primeira fase larval da *A. salina*. Os cistos absorvem a água de maneira rápida e fácil. Se as condições ambientais forem favoráveis, como a temperatura adequada, salinidade, luz solar e oxigênio os embriões internos começam o desenvolvimento (LACERDA, 2019).

Figura 4 - Representação da morfologia de *Artemia salina*



Fonte: Adaptado de Amat (1985, p. 15).

O corpo é composto por três segmentos: cabeça, tórax e abdome, como mostra a figura abaixo. A espécie apresenta dimorfismo sexual, as principais diferenças morfológicas entre machos e fêmeas são a largura do terceiro segmento abdominal, comprimento total e o comprimento do abdome. O macho adulto atinge de 8 a 10 mm de comprimento, e a fêmea de 10 a 12 mm (DUMITRASCU, 2011).

Segundo o mesmo autor, as condições propícias de vida são calor, presença de luz solar e uma ampla faixa de concentração de sal. Apesar disso, são seres que sobrevivem em águas com baixas dosagens de oxigênio, podendo sobreviver a períodos de seca em estado de cisto, voltando a se reproduzir em situações propícias.

Quando as condições ambientais são favoráveis com alto teor de oxigénio dissolvido, abundância de alimento e salinidade dentro dos níveis aceitáveis, ocorre a ovoviparidade: os náuplios desenvolvem-se dentro do saco ovígero da fêmea até ao instar I e, posteriormente, são libertados pelas fêmeas no ambiente. No caso da oviparidade, esta ocorre quando as condições ambientais são desfavoráveis, ou seja, quando há escassez de alimento, baixo teor em oxigénio dissolvido e alta salinidade (ALVES, 2021).

O desenvolvimento e metabolismo do embrião são interrompidos (diapausa e criptobiose) durante o estado de gástrula e uma camada espessa segregada pelas glândulas localizadas no útero (glândulas de casca) desenvolve-se em volta do embrião, formando quistos que são libertados pelas fêmeas para o ambiente (CRIEI e MACRAE, 2002).

Dessa maneira, o método de ensaio de toxicidade do camarão marinho, que usa larvas de *A. salina* como animais de teste, é um teste de bioensaio biológico simples, rápido e de baixo custo que requer uma quantidade mínima de amostra (HAMRUN *et al.*, 2020).

Além disso, *A. salina* pode ser utilizada como náuplios (dentro das 24 h de vida) ou no estado adulto (3 semanas de vida, adulto mede 2 cm de comprimento) para o teste (KOKKALI *et al.*, 2011). O ensaio de toxicidade é baseado na letalidade de Artemia na presença de quaisquer compostos biológicos e/ou químicos (MANSFIELD *et al.*, 2015).

Figura 5 - Imagem de uma *Artemia salina* no estado adulto



Fonte: Constantin e Mioara (2011, p. 119).

A literatura descreve vários trabalhos envolvendo a avaliação da toxicidade de extratos e substâncias frente as larvas de *Artemia* spp., uma vez que este método não faz uso de animais maiores, não precisa de uma infraestrutura avançada para manter os indivíduos. Além disso, os animais utilizados em outros métodos necessitam de acompanhamento e controle do seu metabolismo, o que não é exigido pela Artemia, acarretando assim uma notável redução de custos na sua utilização em testes de toxicidade (VICTAL *et al.*, 2015).

Desta forma, diversos autores relatam o uso da *A. salina* em diferente atividade biológica, como Paz e colaboradores (2022), investigaram a toxicidade do extrato vegetal, óleo essencial e hidrolato. Eles perceberam que a toxicidade do *Z. officinale* Roscoe foi maior que o *A. sativum* L. nos dois ensaios, e o extrato vegetal de ambas as plantas possui maior toxicidade que o óleo essencial e o hidrolato. E concluíram

que resultado favorece uma conduta terapêutica complementar para o combate de infecções microbianas.

Segundo Dionisio e colaboradores (2018) em um trabalho publicado na EMBRAPA, usando a metodologia de toxicidade por meio do bioensaio com *A. salina*, onde eles investigaram o extrato concentrado de carotenoides obtido da fibra do pedúnculo de caju - ECC. Como resultado, com relação ao ECC, a dose letal média (DL50) foi de 1,75 mg/mL. Segundo Meyer e colaboradores (1982), valores superiores a 1,0 mg/mL indicam que o material testado é atóxico, o que é um importante resultado quando se vislumbra uma aplicação alimentar do material.

Miguel e colaboradores (2021), avaliando a toxicidade e o efeito protetor da água de coco processada por PF e US, como resultados desse trabalho não foi tóxica para os náuplios de *A. salina* a 10, 100 ou 1000 µg mL<sup>-1</sup>, todas as amostras de água de coco, incluídas as não tratadas, apresentaram efeito protetor contra o estresse oxidativo causado pelo H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> atingindo níveis de 87,5% de proteção em relação ao controle (24 h de experimento).

Silva e colaboradores (2013), avaliando a toxicidade do extrato hidroalcóolico da folha do cajueiro submetido a distintas doses de irradiação, demonstraram que todos os materiais apresentaram toxicidade utilizando-se *A. salina*, sendo que esta toxicidade variou de acordo com o processo aplicado. Os autores sugerem que a irradiação pode vir a alterar a composição dos componentes químicos do material e, consequentemente, alterar a sua toxicidade.

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo geral

Avaliar a toxicidade de sucos de caju (*Anacardium occidentale L.*,) processados por plasma frio e ultrassom através da utilização de *Artemia salina* como modelo experimental.

#### 3.2 Objetivos específicos

- Realizar dois tipos de processamentos não térmicos em suco de caju: plasma frio e ultrassom;
- Determinar as concentrações letais (CL<sub>50</sub>) do suco de caju processado por plasma frio e por ultrassom, no modelo experimental de *Artemia salina*;
- Avaliar a lipoperoxidação induzida pelo suco de caju processado por plasma frio e por ultrassom, no modelo experimental de *Artemia salina*;
- Quantificar a atividade das enzimas catalase e superóxido dismutase em *Artemia salina*, exposta ao suco de caju processado por plasma frio e por ultrassom;
- Avaliar o efeito protetivo do suco de caju processado por plasma frio e por ultrassom, contra a toxicidade em *Artemia salina* induzida por peróxido de hidrogênio;
- Caracterizar as alterações morfológicas e ultraestruturais no modelo experimental de *Artemia salina*, exposto ao suco de caju processado por plasma frio e por ultrassom, através de técnicas de microscopia ótica, eletrônica de varredura e eletrônica de transmissão.

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Caju

O suco de caju foi preparado a partir da diluição de 100g de polpa de caju sem conservantes em 200 mL de água destilada. A polpa foi adquirida no comércio local.

### 4.2 Processamentos

#### 4.2.1 Ultrassom

O suco de caju foi processado segundo metodologia descrita por Alves Filho e colaboradores (2020). Para tanto, foi utilizado um desruptor ultrassônico de 500W, Unique® modelo DES500 com frequência constante de 18kHz e macro ponta de titânio com diâmetro de 13 mm. A sonda de titânio foi imersa 1,5 cm abaixo da superfície do líquido. Amostras de 100 mL de suco de caju foram colocadas em um reator encamisado e em seguida foi aplicada potência ultrassônica de 5000 W/L, durante 5 minutos, a 25 °C (banho de água circulante).

#### 4.2.2 Plasma a frio

O suco de caju foi processado em gerador de plasma Inergiae modelo PLS0130, segundo metodologia descrita por (PORTO *et al.*, 2020). O sistema consiste em gerador acoplado a câmara contendo dois discos de alumínio de 8 cm de diâmetro separados a distância de 15 mm. Duas chapas de acrílico de 5 mm de espessura foram utilizadas como barreira dielétrica. Alíquotas de 20 mL do suco de caju foram acondicionadas em placa de Petri de poliestireno fechada e submetidas à exposição direta ao plasma. As frequências utilizadas foram 50 e 1.000 Hz e as voltagens 17 e 20 kV. O tempo de processamento foi de 15 min para todos os tratamentos.

### 4.3 Teste de toxicidade aguda utilizando náuplios instar II de *Artemia salina* como modelo experimental

Os cistos dormentes de alta eclosão foram adquiridos comercialmente e a metodologia foi baseada na que foi descrita por Meyer (MEYER *et al.*, 1982). Para a obtenção dos náuplios instar II, cistos foram hidratados em 350 mL de água do mar

artificial, preparada previamente com água destilada e sal marinho, mantidos sob constante aeração e com fotoperíodo de 8h luz/16h escuro, a temperatura de  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ .

Inicialmente, 10 náuplios foram adicionados em placas de poliestireno de 24 poços, contendo 1 mL de água do mar artificial. Sequencialmente, foram adicionadas diferentes concentrações dos sucos de frutas (10, 100 e  $1.000 \mu\text{g/mL}^{-1}$ ). Todos os testes foram realizados em quintuplicata e foi utilizado como controle positivo uma solução com dicromato de potássio 0,5 M e para o controle negativo apenas água do mar artificial. As placas foram armazenadas a  $22 \pm 2^\circ\text{C}$  durante 24 e 48 horas sob iluminação constante.

Após 48h de experimento, os animais mortos (imobilização observada por 10 segundos) foram contabilizados com auxílio de um microscópio estereoscópico. Em seguida, os náuplios mortos foram fixados em solução contendo glutaraldeído a 2,5%, formaldeído a 4%, diluídos em tampão cacodilato de sódio 0,05 M, e mantidos em temperatura ambiente até o processamento para microscopia. Os dados foram plotados no programa Excel (V.15.26-Microsoft) e a equação da reta foi calculada para determinar a concentração capaz de eliminar 50% dos indivíduos ( $\text{CL}_{50}$ ). Todos os experimentos foram conduzidos em quintuplicata.

#### 4.4 Lipoperoxidação

A atividade de lipoperoxidação foi avaliada pelo método Fox modificado como equivalentes de hidroperóxido de cumeno (CHP) (HERMES-LIMA *et al.*, 1995; JIANG *et al.*, 1991; VITORINO *et al.*, 2015). Náuplios de artêmias foram congelados e homogeneizados em metanol 100% (1:5 pesos/volumes). Os homogenatos foram centrifugados a frio a  $21,130 \times g$  e o sobrenadante (15  $\mu\text{L}$ /por poço) foi transferido para microplacas de 96 poços. As amostras foram tratadas com 90  $\mu\text{L}$  de  $\text{FeSO}_4$  (1 mM), 35  $\mu\text{L}$  de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (0,25 M), 35  $\mu\text{L}$  de alaranjado de xilenol (1 mM) e 175  $\mu\text{L}$  de água ultrapura. A incubação ocorreu por 1 h à temperatura ambiente e a absorção foi medida a 580 nm (Leitor de placas Bioteck Epoch). Em seguida, 10  $\mu\text{L}$  de CHP (175  $\mu\text{M}$ ) foram adicionados às amostras e a absorbância a 580 nm foi lida novamente após 15 min.

## 4.5 Atividades enzimáticas

### 4.5.1 Preparo de extrato celular para a determinação das atividades enzimáticas

As células foram coletadas por centrifugação (4000 rpm r, 5 minutos e 4°C) e lavadas por quatro vezes com água destilada. Posteriormente, as células (0,5 g) foram ressuspendidas em 2,5 mL de tampão fosfato de potássio (50 mM e pH 7,0). Em seguida, as células foram rompidas através de agitação em vortex e pérolas de vidro (Sigma, diâmetro 425-600 um), esse procedimento foi repetido por 4 vezes, com intervalos de um minuto em banho de gelo. Por fim, o homogenato celular foi centrifugado (20000 xg por 20 minutos, 4 °C) e o sobrenadante foi utilizado para a determinação das atividades enzimáticas (JAMNIK e RASPOR, 2003).

### 4.5.2 Catalase

A atividade da catalase foi determinada de acordo com estudos anteriores (JEMEC *et al.*, 2008 e MADHAV *et al.*, 2017) com algumas modificações. Para tanto, 50 mg de biomassa foram homogeneizados em 2 mL de tampão fosfato (0,5 M, pH 7,5), centrifugados a 12.000 rpm a 4 °C por 30 min (YILANCIOLU *et al.*, 2014) e o sobrenadante foi utilizado para a dosagem enzimática. Em seguida, 50 µL de sobrenadante foram adicionados a 1 mL de solução de peróxido de hidrogênio (20 mM) preparada em tampão de triz HCL/EDTA (200mM/2mM)). A reação foi medida espectrofotometricamente durante 3 minutos a 25 °C a 240 nm (Leitor de placas Biotek Epoch). A atividade da catalase foi expressa como µmoles de peróxido de hidrogênio esgotado/min/mg de proteína (coeficiente de extinção,  $\epsilon_{240} = 43,6 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ).

### 4.5.3 Superóxido dismutase

A atividade da superóxido dismutase foi medida de acordo com o método descrito por Kono (1978) com adaptações. Resumidamente, a mistura de reação (2,1 mL) contém 100 µL de tampão de carbonato de sódio (50 mM, pH 7), 20 µL de EDTA (0,01M ou 0,001M), 20 µL de nitroazul de tetrazólio (24 mM), 20 µL de hidroxilamina (1 mM), 20 µL de Triton X-100 (0,3%). Posteriormente, 20 µL de extrato de células foram adicionados e a absorbância foi lida a 560 nm (Leitor de placas Biotek Epoch) por 5 min contra o branco (mistura de reação sem extrato de células). Neste

experimento, um controle específico contendo mistura de reação com extrato celular (provenientes de indivíduos não expostas) também foi executado. A mudança na absorbância por minuto foi calculada e usada na estimativa da atividade enzimática (coeficiente de extinção,  $\epsilon_{240} = 39,4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ).

#### **4.6 Efeito protetivo do suco de caju contra a toxicidade induzida por peróxido de hidrogênio em *Artemia salina***

Primeiramente, a toxicidade dos sucos de frutas processados não termicamente foi avaliada através da metodologia descrita acima para o teste de toxicidade aguda de *Artemia salina*. Em seguida, aquelas amostras que não apresentarem toxicidade foram testadas quanto ao efeito protetivo.

Os cistos de *Artemia salina* foram eclodidos e transferidos para microplacas de 24 poços contendo água do mar artificial. Em seguida foi adicionado H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, à concentração final 127,45 mM (CL<sub>50</sub>). Após 2h de interação, os sucos de fruta foram adicionados aos poços nas concentrações finais de 10, 100 e 1000 µg/mL, em volume final de 2mL. A contagem dos indivíduos bem como a investigação das alterações morfológicas foram realizadas em 24, 48 e 72h de experimento (LES *et al.*, 2015). O grupo controle foi exposto à apenas a água do mar artificial e o controle positivo foi exposto à peróxido de hidrogênio (127,45 mM). O experimento foi realizado nas condições de teste de toxicidade aguda.

#### **4.7 Microscopia**

Exemplares de náuplios de *Artemia salina* foram investigados com diferentes abordagens em microscopia óptica, eletrônica de varredura e transmissão.

##### **4.7.1 Microscopia óptica**

Para a investigação histológica dos animais expostos a diferentes concentrações de sucos de frutas processados não termicamente os indivíduos foram anestesiados a frio, fixados, desidratados e incluídos em historesina de acordo com metodologia descrita por Castro e colaboradores (2018). Amostras foram seccionadas em micrótomo rotativo (RM 2265 – Leica), coradas e observadas em microscópio

óptico de campo claro (Primo Star – Zeiss). O registro fotográfico foi através do software Zen Lite (Zeiss).

Com o intuito de investigar a produção de radicais livres e o estresse oxidativo foram utilizadas diferentes sondas fluorescentes (KULKARNI *et al.*, 2018; MUGONI *et al.*, 2014). O material foi observado no microscópio confocal a laser (CLSM 710 – Zeiss).

#### **4.7.2 Microscopia eletrônica de varredura**

Para a análise de mudanças na superfície dos indivíduos foi utilizada a microscopia eletrônica de varredura de acordo com metodologia descrita por Campos e colaboradores (2016) (CASTRO *et al.*, 2018).

#### **4.7.3 Microscopia eletrônica de transmissão**

Para a investigação de modificações subcelulares foi utilizada microscopia eletrônica de transmissão de fragmentos dos tecidos dos indivíduos. As amostras foram fixadas, desidratadas e incluídas em resina de acordo com metodologia descrita por Morris e colaboradores (2017) (MORRIS *et al.*, 2017).

### **4.8 Determinação da CL<sub>50</sub>**

Após diferentes períodos de exposição, quando pertinente, os dados obtidos nos testes de letalidade foram processados através de utilização do programa Microsoft Excel e, os valores de CL<sub>50</sub> foram computados a partir da porcentagem de morte e logaritmo das concentrações por análise *Probit*, como descrito por Finney, em 1971(FINNEY, 1971).

### **4.9 Análise estatística**

Os dados foram apresentados como média ± desvio padrão da média de três experimentos independentes. A CL<sub>50</sub> (expressa em mg/L) foi determinada com base na mortalidade cumulativa obtida de três experimentos independentes em cada

instante (24, 48, 72 e 96 h) usando a análise Regression Probit com o SPSS Statistics for Windows versão 17.0 (SPSS Inc., Chicago, EUA). A CL<sub>50</sub> em mg/L foi convertida em CL<sub>50</sub> mmol/L para tornar a toxicidade relativa mais fácil de examinar.

As comparações estatísticas entre os grupos foram realizadas usando ANOVA unidirecional seguida por teste de LSD, considerando p<0,05 estatisticamente significativo. Quando uma tendência estiver presente, o menor nível de efeito observado (LOEL) foi definido como a menor concentração que induz efeito estatisticamente significativo ( $\alpha = 0,05$ ) dos controles negativos.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Resultados da toxicidade aguda do suco de caju em náuplios instar II de *Artemia salina* processado por ultrassom e plasma frio

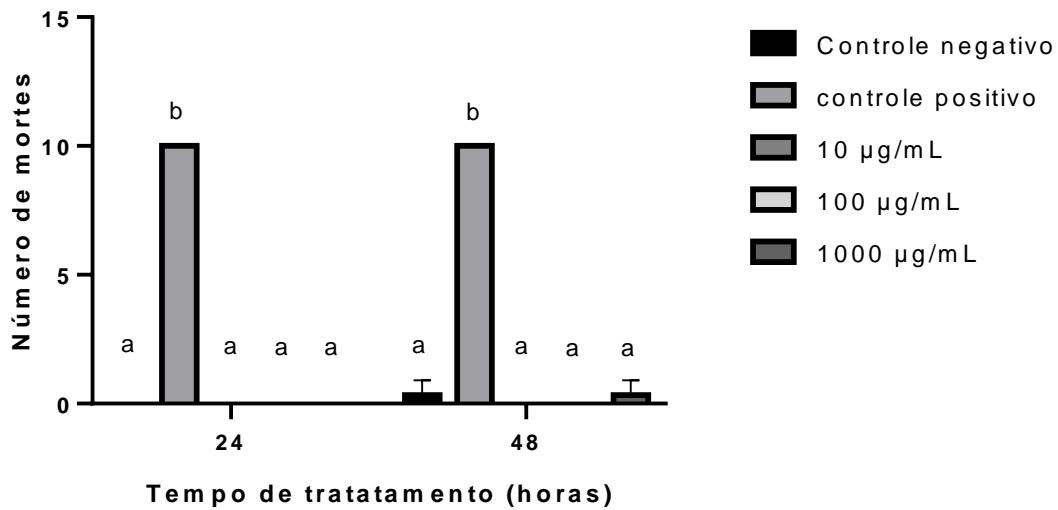
As propriedades nutricionais favoráveis apresentadas pelos sucos, devem-se tanto à sua macro composição, relacionada a carboidratos, proteínas e fibras, quanto a vitaminas, minerais, compostos bioativos e alto potencial antioxidante (KALAYCIOĞLU e ERIM, 2017).

Tal composição pode proporcionar benefícios à saúde desde que os processos de conservação e garantia da qualidade do produto preservem estes elementos sob sua forma ativa (VIEIRA, 2020).

O ensaio de *A. salina* é uma ferramenta útil na avaliação toxicológica de diversos produtos naturais, industrializados e resíduos (SILVA et al., 2020).

A interação de náuplios de *Artemia salina* em suco de caju não tratado não levou a efeito tóxico, mesmo em alta concentração (1000 µg/mL) e tempo de exposição 48h (Fig. 6A). A amostra exposta a K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> 0,5M (controle positivo) foi letal para 100% dos náuplios em contraste com a exposta apenas à água do mar artificial (controle negativo) que não apresentou indivíduos mortos (Fig. 6). Os controles exibiram os mesmos resultados em todos os experimentos.

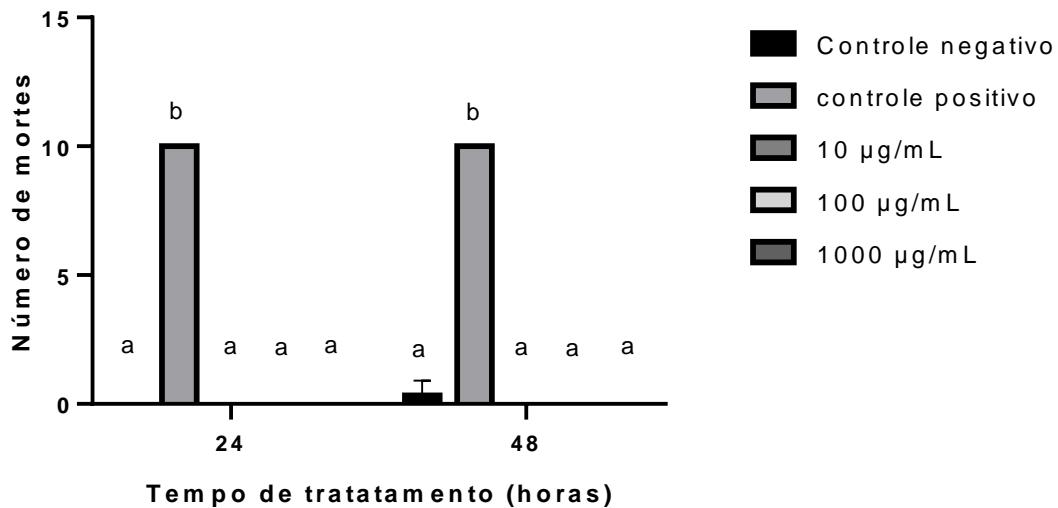
Figura 6 - Resultados do teste de toxicidade aguda utilizando náuplios instar II de *Artemia salina* em suco de caju *in natura* em 24 e 48 horas



CN - Grupo controle negativo: água do mar artificial; CP - Grupo controle positivo: dicromato de potássio 0,5M; 10 – concentração da amostra (10 mg/mL); 100 – concentração da amostra (100 mg/mL); 1000 – concentração da amostra (1.000 mg/mL); 24 horas e 48 horas de experimentação.

Dessa forma, também foi realizada a toxicidade do suco de caju processado por ultrassom para avaliar seu nível de toxicidade, e consequentemente oferecer um produto de qualidade aos consumidores. O resultado do bioensaio é mostrado logo abaixo onde o suco de caju processado por ultrassom não apresentou morte de indivíduos em todas as concentrações e tempos testados (Fig. 7).

Figura 7 - Resultados do teste de toxicidade aguda utilizando náuplios instar II de *Artemia salina* em suco de caju processado por ultrassom em 24 e 48 horas



CN - Grupo controle negativo: água do mar artificial; CP - Grupo controle positivo: dicromato de potássio 0,5M; 10 – concentração da amostra (10 mg/mL); 100 – concentração da amostra (100 mg/mL); 1000 – concentração da amostra (1.000 mg/mL); 24 e 48 horas de experimentação.

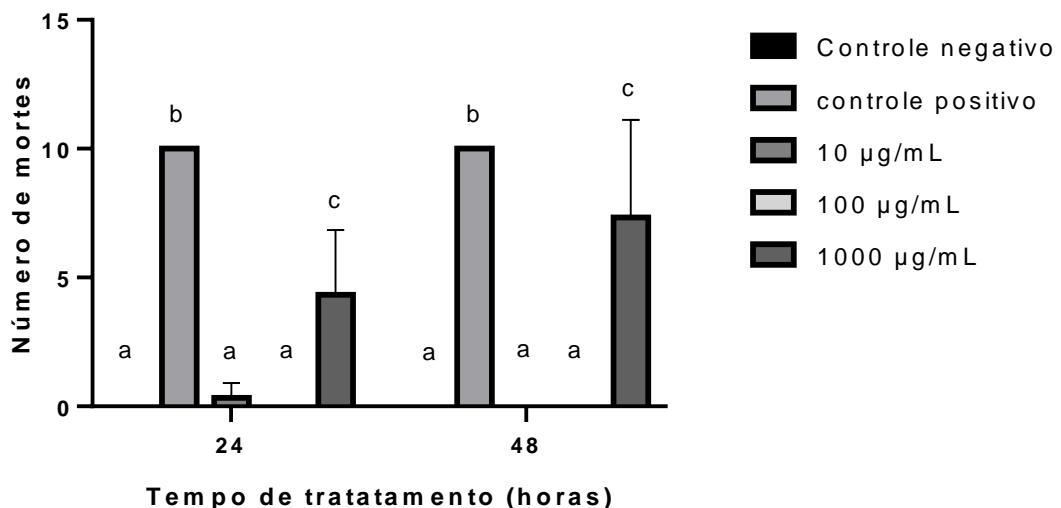
O ultrassom pode ser empregado na indústria de processamentos de frutas e hortaliças, seja para contribuir na melhoria da qualidade e na segurança dos produtos, seja para potencializar processos já existentes (OJHA *et al.*, 2018).

Recentemente, estudos avaliaram a aplicação do ultrassom em frutas e hortaliças, e em suco de frutas, com resultados positivos nos aspectos sensorial, microbiológico, físico-químico e nutricional (ALVARENGA *et al.*, 2020), indicando este método como tecnologia inovadora, viável, de baixo custo e com resultados desejáveis para a preservação da qualidade (DOLAS *et al.*, 2019).

Hoje, o uso de tecnologias de processamento de alimentos não térmicos está disponível para atender às demandas dos naturais e saudáveis sucos de frutas com o mínimo de danos às suas propriedades nutricionais e organolépticas naturais. No processo de transformação de sucos de frutas convencional, este é termicamente tratado e resulta em alguma perda de compostos nutricionais tais como flavonoides (IGUAL *et al.*, 2011) e carotenoides (FRATIANNI *et al.*, 2010).

Sendo assim, também foi realizada a toxicidade do suco de caju processado por plasma frio à 50Hz, para preservar sua composição nutricional. O suco de caju processado por plasma frio à 50 Hz não causou toxicidade aos náuplios nos expostos a 10 µg/mL e 100 µg/mL. Por outro lado, a 1000 µg/mL (concentração máxima testada) a letalidade foi observada para 43% dos náuplios às 24h e para 73% dos indivíduos às 48h (Fig. 8).

Figura 8 - Resultados do teste de toxicidade aguda utilizando náuplios instar II de *Artemia salina* em suco de caju processado por plasma a frio à 50Hz em 24 e 48 horas



CN - Grupo controle negativo: água do mar artificial; CP - Grupo controle positivo: dicromato de potássio 0,5M; 10 – concentração da amostra (10 mg/mL); 100 – concentração da amostra (100 mg/mL); 1000 – concentração da amostra (1.000 mg/mL); 24 e 48 horas de experimentação.

Embora o suco de caju plasmolizado, 50 Hz, atinja alta toxicidade (73% dos indivíduos em 48h), esse nível de toxicidade só foi alcançado em concentrações muito altas, como 1000 µg/mL. Compostos tóxicos conhecidos como nanopartículas de prata são letais para 50% dos indivíduos de *Artemia salina* (LC50) em concentrações mais baixas como 10,70 µg/mL (AN *et al.*, 2019) e 3,79 µg/mL-1 (GAMBARDELLA *et al.*, 2015).

Miguel e colaboradores (2021) demonstraram que a água de coco não tratada e não tratada termicamente (ozônio, plasma frio e ultrassom) não causou mortes em náuplios de *Artemia salina*. Este fato reforça que os efeitos do processamento não térmico em alimentos são dependentes da matriz alimentar (PAIXÃO *et al.*, 2019).

Os efeitos do processamento a plasma em matrizes alimentícias, principalmente em sucos de frutas, ainda são pouco compreendidos do ponto de vista químico. De fato, o efeito da aplicação dessa tecnologia deve ser cuidadosamente investigado para entender qualquer alteração no perfil dos componentes após o tratamento.

Um estudo recente elucidou que o processamento a plasma frio afeta a concentração de substâncias como açúcares, ácido málico, ácido lático e vitamina C

no suco de caju (LEITE *et al.*, 2021). Além disso, o processamento a plasma também afeta a composição da castanha de caju (ALVES FILHO *et al.*, 2019).

Os dados obtidos sugerem que, no caso do suco de caju, é possível que alguma substância tóxica seja gerada ou aumente sua concentração. Por outro lado, na água de coco (MIGUEL *et al.*, 2021) é possível que alguma substância com ação contra radicais livres tenha gerado ou aumentado, levando a um efeito protetor.

O plasma a frio é considerado uma tecnologia não térmica, pois apresenta boas características de modificação de alimentos, inativação de enzimas e destruição de microrganismos à temperatura ambiente. O plasma age nos alimentos através das espécies reativas formadas como elétrons, íons e radicais livres (THIRUMDAS *et al.*, 2017).

No processamento de sucos, a tecnologia ultrassônica é relatada por ter um efeito mínimo sobre a degradação dos parâmetros de qualidade, como cor, conteúdo de ácido ascórbico e antocianinas em alguns sucos de frutas estudados como o de amora preta e morango (TIWARI *et al.*, 2010).

Segundo os mesmos autores, outros estudos indicam que o processamento com ultrassom aumenta a extração de fenólicos e outros compostos bioativos no mosto de uvas ou de vinho, e que a extração de compostos bioativos e antocianinas assistida por ultrassom melhora a extração e produção de compostos bioativos entre 6% e 35%.

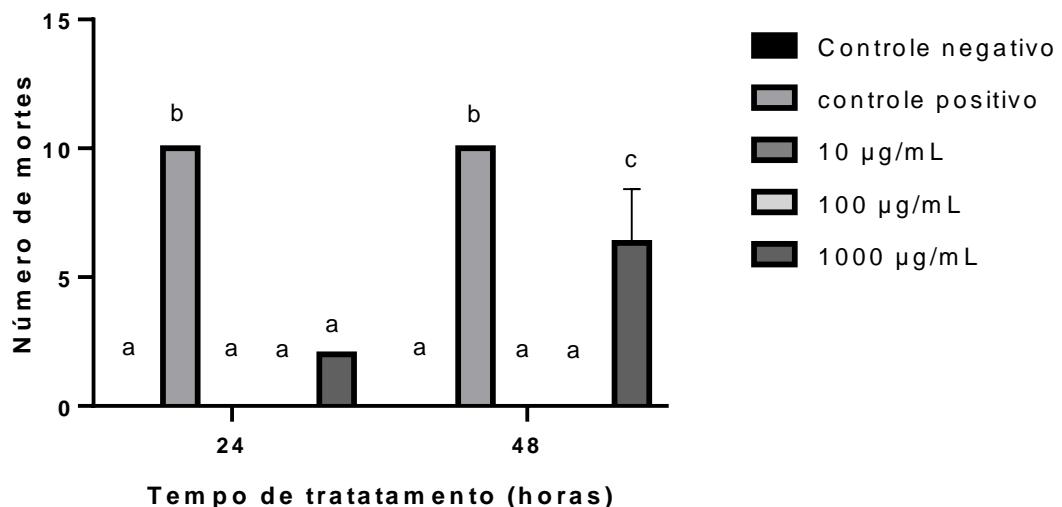
Estas melhorias são possíveis devido às propriedades de transferência instantânea de energia acústica em sucos de frutas. O tratamento com ultrassom pode penetrar as paredes celulares da fruta e liberar o conteúdo da célula preso nos tecidos do fruto. A preservação térmica, tais como pasteurização e a esterilização são comumente usados para destruir os micro-organismos e inativar enzimas nos sucos de frutas (MENA *et al.*, 2013).

A letalidade da tecnologia do plasma frio atmosférico depende de várias variáveis operacionais, entre as quais destaca-se a potência de entrada (tensão e frequência). Quanto maior a frequência e tensão de entrada, maior a inativação (DASAN *et al.*, 2016).

O efeito antimicrobiano do plasma frio é resultado da ação de partículas carregadas e espécies reativas presentes no plasma que podem causar danos à membrana celular, podendo levar a maior penetração de espécies reativas na célula, danos ao DNA e quebra de ligações químicas (FERNANDEZ & THOMPSON, 2012).

Todavia, também foi realizada o teste de toxicidade com o suco de caju processado por plasma frio com uma frequência maior à 1000Hz, para avaliar se o suco seria tóxico em diferentes frequências. O suco de caju processado por plasma frio à 1000 Hz também não apresentou efeito tóxico em 10 µg/mL e 100 µg/mL, e efeito tóxico a 1000 µg/mL para 20% dos indivíduos às 24h e 63% às 48 horas.

Figura 9 - Resultados do teste de toxicidade aguda utilizando náuplios instar II de *Artemia salina* em suco de caju processado por plasma a frio a 1.000Hz em 24 e 48 horas



CN - Grupo controle negativo: água do mar artificial; CP - Grupo controle positivo: dicromato de potássio 0,5M; 10 – concentração da amostra (10 mg/mL); 100 – concentração da amostra (100 mg/mL); 1000 – concentração da amostra (1.000 mg/mL); 24 e 48 horas de experimentação.

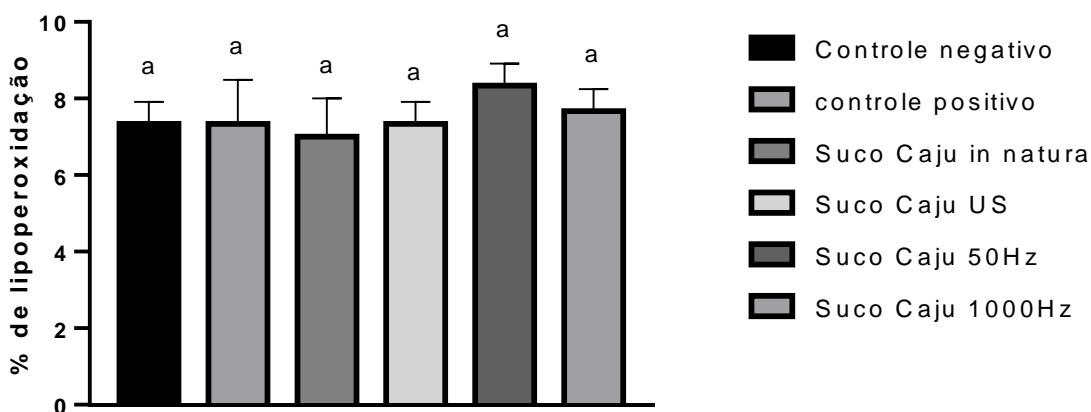
Muitos trabalhos têm sido realizados com a utilização do suco de frutas para determinar sua atividade ou não, toxica ou citotóxica. Podemos citar por exemplo, o trabalho de Jiménez e colaboradores (2011) que utilizou o suco de *Berberis boliviiana* e testou a letalidade frente aos náuplios de *Artemia salina*. Os resultados mostraram uma concentração letal média ( $CL_{50}$ ) de 247 µg/mL, que o significa que este extrato pode ser considerado para mais estudos para determinar sua viabilidade para uso farmacêutico.

Outros trabalhos também demonstraram bons resultados com teste de toxicidade aguda frente a náuplios instar II de *Artemia salina*, como encontrou o Miguel e colaboradores (2021) utilizando a água de coco processado com plasma e ultrassom. Como resultados, a água de coco não foi tóxica para náuplios de *Artemia salina* em 10, 100 ou 1000 µg/mL.

## 5.2 Lipoperoxidação

Como forma de entender melhor os mecanismos de toxicidade, determinamos a quantidade de peroxidação lipídica utilizando o suco de caju *in natura* e processado (ultrassom e plasma frio) em náuplios de *A. salina* (Fig. 10). A lipoperoxidação foi maior nos náuplios tratados com suco de caju processado por plasma frio à 50 Hz ( $8,2 \pm 0,43 \mu\text{mol/mg}$ ) e menor na amostra tratada com suco de caju *in natura* ( $7,54 \pm 0,47 \mu\text{mol/mg}$ ) (Fig. 10).

Figura 10 - Resultados do teste de lipoperoxidação utilizando náuplios instar II de *Artemia salina* em suco de caju *in natura* e processado por plasma frio (50 e 1.000 Hz) e por ultrassom



CN - Grupo controle negativo: água do mar artificial; CP - Grupo controle positivo: Peróxido de hidrogênio 127,45 mM; Grupo do suco de caju *in natura* (15 µL/por poço); Grupo do suco de caju processado por ultrassom (15 µL/por poço); Grupo do suco de caju processado por plasma à 50Hz (15 µL/por poço); Grupo do suco de caju processado por plasma à 1000Hz (15 µL/por poço).

Os radicais livres são moléculas instáveis e que perdem um elétron ao interagirem com outras moléculas ao seu redor, a sua formação é decorrente da metabolização do oxigênio e são oriundas através de ações endógenas, quando se formam naturalmente pelo organismo e derivam de reações metabólicas, ou por ações exógenas, estímulos externos como os raios ultravioletas, alimentos industrializados e gordurosos (MANGELA e MARTINS, 2021).

As concentrações de radicais livres presentes no organismo são reguladas pelos chamados antioxidantes, moléculas capazes de inibir ou reduzir o estresse oxidativo, que podem ser gerados endogenamente ou podem ser obtidos principalmente através da alimentação. Existe uma infinidade de vitaminas e minerais

que apresentam função antioxidante presentes nos alimentos, principalmente em frutas e hortaliças. (LIU *et al.*, 2018b).

As substâncias antioxidantes naturais podem ser utilizadas para aumentar o tempo de conservação dos alimentos, além de promover benefícios para a saúde, atuando na prevenção de várias doenças relacionadas ao estresse oxidativo, como câncer, doenças cardiovasculares e neurodegenerativas, hipertensão e diabetes (XU *et al.*, 2017).

Os antioxidantes são substâncias que diminuem ou bloqueiam a oxidação provocada pelos radicais livres, podem ter origem endógena ou exógena: entre os antioxidantes de origem endógena destacam-se glutatona reduzida (GSH), superóxido-dismutase (SOD), catalase, glutatona-peroxidase (GSH-Px) (ROCHA *et al.*, 2016).

Segundo os mesmos autores, os antioxidantes de origem exógena que auxiliem na proteção adequada. inseridos no organismo através da ingestão de certos alimentos, os carotenoides, as vitaminas C e E, o selénio, o zinco e os flavonoides. Estes antioxidantes são provenientes da dieta e funcionam como um complemento aos antioxidantes endógenos reduzindo os danos causados por radicais livres no corpo humano.

As superóxidos dismutases (SOD), são enzimas que contem metal e que catalisam a conversão de dois superóxidos em oxigênio e peróxido de hidrogênio, que é menos tóxico que o superóxido. A catalase (CAT), enzima que se localiza nos peroxissomas, degrada o peróxido de hidrogênio em água e oxigênio, completando então a reação iniciada pela SOD (BARBOSA, 2009).

Esses compostos bloqueiam não só a peroxidação dos lipídios, mas também a oxidação de outras moléculas, como proteínas, DNA, entre outras. Os principais antioxidantes dietéticos são algumas vitaminas, compostos fenólicos e carotenoides. Eles interagem com os radicais livres antes que estes possam reagir com as moléculas biológicas, evitando que ocorram as reações em cadeia ou prevenindo a ativação do oxigênio a produtos altamente reativos (SILVA *et al.*, 2016).

Nos últimos anos tem crescido o interesse em determinar a atividade antioxidante das frutas, vegetais e especiarias (SILVA, 2019). Nesse sentido Fu e colaboradores (2011) a fim de fornecer novas informações sobre a função antioxidante de frutas avaliaram 62 frutos, suas atividades antioxidantes e o conteúdo fenólico total.

Estes estudos são importantes para obter informações nutricionais, demonstrar o valor biológico dos alimentos e priorizá-los na alimentação.

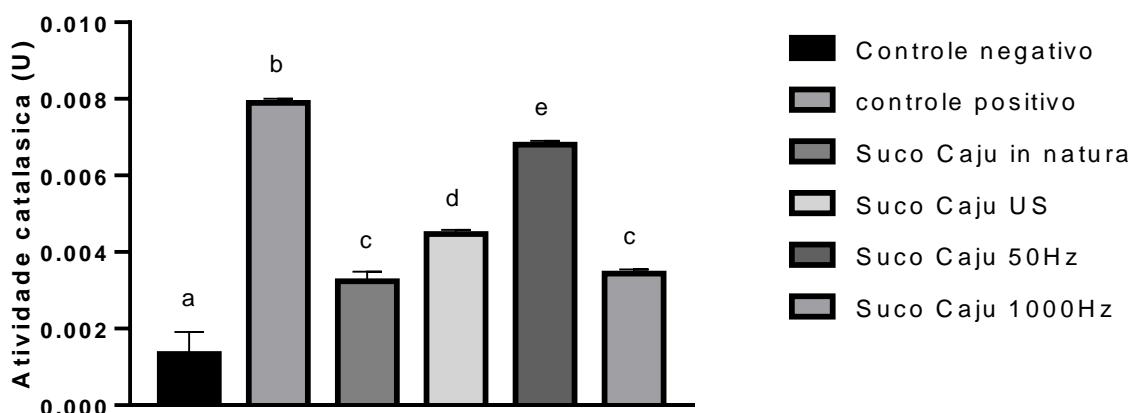
### 5.3 Atividade enzimática

#### 5.3.1 Catalase

Para avaliar a resposta ao estresse oxidativo induzido pela aplicação das tecnologias não térmicas, foi determinada a atividade da catalase no suco de caju *in natura* e processado (ultrassom e plasma frio).

Para avaliar sua atividade e obtivemos esse resultado que mostrado na figura a baixo. De acordo com o gráfico, o teste apresentou uma atividade da catalase variou de  $0,0010 \pm 0,0003 \mu\text{mol/min}$  na amostra tratada apenas com água do mar artificial (controle negativo) a  $0,0109 \pm 0,0054 \mu\text{mol/min}$  na amostra tratada com  $\text{H}_2\text{O}_2$  controle positivo (Fig. 11).

Figura 11 - Resultados do teste de catalase utilizando náuplios instar II de *Artemia salina* em suco de caju *in natura* e processado por plasma frio (50 e 1.000 Hz) e por ultrassom



CN - Grupo controle negativo: água do mar artificial; CP - Grupo controle positivo: Peróxido de hidrogênio 127,45 mM; Grupo do suco de caju *in natura* (15 µL/por poço); Grupo do suco de caju processado por ultrassom (15 µL/por poço); Grupo do suco de caju processado por plasma à 50Hz (15 µL/por poço); Grupo do suco de caju processado por plasma à 1000Hz (15 µL/por poço).

Segundo Tyutereva e colaboradores (2017), as catalases têm a capacidade de remover cerca de 25% de todo o  $\text{H}_2\text{O}_2$  peroxissomal, bem como a capacidade de atuar nas regulações autofágicas e de morte celular programada, representando a enzima mais abundante nos peroxissomos.

Além disso, a CAT possui baixa afinidade pelo substrato e atua na remoção do excesso, onde apresenta alta taxa de atividade, tendo sido a primeira enzima

antioxidante documentada (KAUSHAL *et al.*, 2018) e que aparece em todos os organismos eucarióticos e procarióticos (AHMAD, 2014).

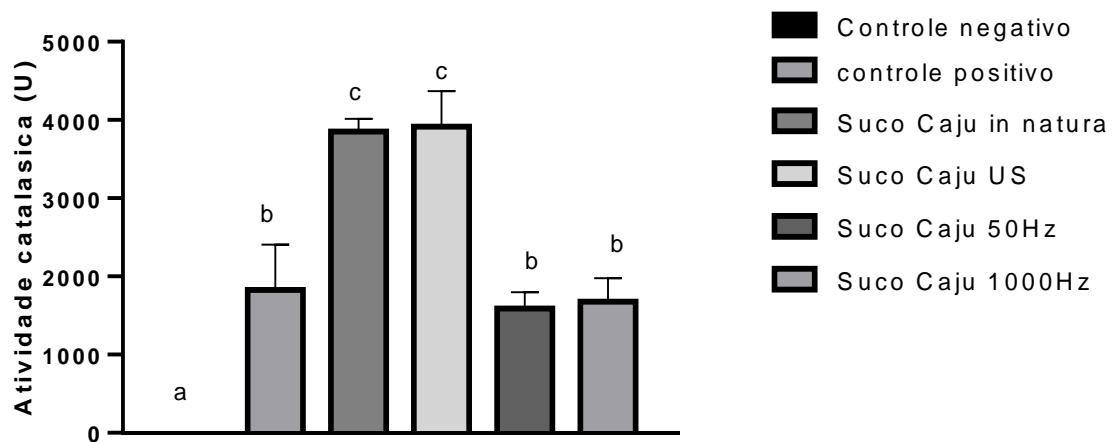
Além da catalase, outras enzimas podem atuar no sequestrador de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, como a glutationa peroxidase (GPX) ou ascorbato peroxidase (APX), que possuem maior afinidade pelo peróxido e atuam na sua regulação fina (RIBEIRO *et al.*, 2017). Entre outras enzimas também como a superóxido desmutase.

### 5.3.2 Superóxido desmutase

É importante manter um equilíbrio nas concentrações de ROS intracelulares e extracelulares. A quantidade de ROS produzida e eliminada é controlada por vários fatores dentro do ambiente celular. Esses fatores são conhecidos como antioxidantes e enzimas antioxidantes. Uma molécula ou composto normal torna-se instável quando perde um elétron, que por sua vez encontra elétrons livres para se tornarem estáveis novamente (GNANARAJ *et al.*, 2017).

De acordo com a figura 12 podemos ver que o teste da superóxido dismutase a variou de 3882,97±1143,84 na amostra tratada com suco de caju processado por ultrassom a 2161,14±1063,9 na amostra tratada com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

Figura 12 - Resultados do teste de superóxido desmutase utilizando náuplios instar II de *Artemia salina* em suco de caju processado por plasma frio (50 e 1.000 Hz) e por ultrassom



CN - Grupo controle negativo: água do mar artificial; CP - Grupo controle positivo: Peróxido de hidrogênio 127,45 mM; Grupo do suco de caju *in natura*; Grupo do suco de caju processado por ultrassom; Grupo do suco de caju processado por plasma à 50Hz; Grupo do suco de caju processado por plasma à 1000Hz; - 20 µL de extrato de células.

As superóxidos dismutases (SOD) são metaloenzimas antioxidantes que desmutam O<sub>2</sub> – em oxigênio molecular e peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), eliminando assim os radicais superóxidos. Eles são atores-chave na defesa das células de espécies reativas de oxigênio (ROS) durante uma infecção de patógenos (MAURYA e NAMDEO, 2021).

ROS, como superóxido, peróxido de hidrogênio, radicais hidroxila e oxigênio singlete, entre outros, são geralmente tóxicos para a célula em concentrações elevadas devido à sua alta reatividade com moléculas biologicamente relevantes, por exemplo, proteínas, ácidos nucleicos e lipídios. No entanto, em concentrações fisiológicas, alguns deles também são importantes reguladores dos processos de sinalização celular (HERB e SCHRAMM, 2021).

Segundo os mesmos autores, o estresse oxidativo e seu manejo cuidadoso também são importantes, pois é um dos meios de defesa mais comuns empregados pelo sistema imunológico no combate a patógenos invasores. Como tal, as EROs são componentes da resposta imune antimicrobiana direta e indireta.

Muitos estudos relatam na literatura, modificações na atividade enzimática foram observadas em náuplios expostos a SnO<sub>2</sub>, CeO<sub>2</sub> e Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-NPs (GAMBARDELLA *et al.*, 2015). Ulm e colaboradores (2015) descreveram que a atividade da superóxido dismutase em *Daphnia magna* exposta a nanopartículas de prata em diferentes concentrações por 48 h não se alterou significativamente quando comparada com o grupo controle.

An e colaboradores (2019) relataram que a mesma atividade enzimática em náuplios de *Artemia salina* expostos a baixa concentração de nanopartículas de prata aumentou significativamente em relação ao grupo controle, no entanto, o nível de SOD diminuiu em 100 mg/L de AgNPs, em comparação com o grupo anterior.

Um incremento substancial na atividade da SOD foi observado em náuplios expostos a 0,1 mg/L AgNWs, embora o aumento da concentração deste composto tenha levado a uma diminuição significativa na atividade enzimática. O uso de alta concentração de suco de caju pode ter influenciado na manutenção dos níveis enzimáticos pela alta concentração de ROS (FONTENELES *et al.*, 2022).

Segundo os mesmos autores, o ultrassom afeta a formação de espécies reativas de oxigênio, como H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, e, consequentemente, as atividades da superóxido dismutase, catalase e ascorbato peroxidase. A atividade da S.O.D aumentou até 280% após o processamento. O caju sonicado, pode ser utilizado como fonte de

enzimas antioxidantes, o que também tem grande importância na indústria terapêutica.

Possivelmente, o uso de menores concentrações de suco poderia levar a um aumento das enzimas. A diminuição da atividade de enzimas antioxidantes como superóxido dismutase e catalase pode estar relacionada ao aumento das concentrações de radicais livres (GOTTFREDSEN *et al.*, 2013; OSTMAN e BOHMER, 2001) possivelmente relacionado ao estresse provocado pelo H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

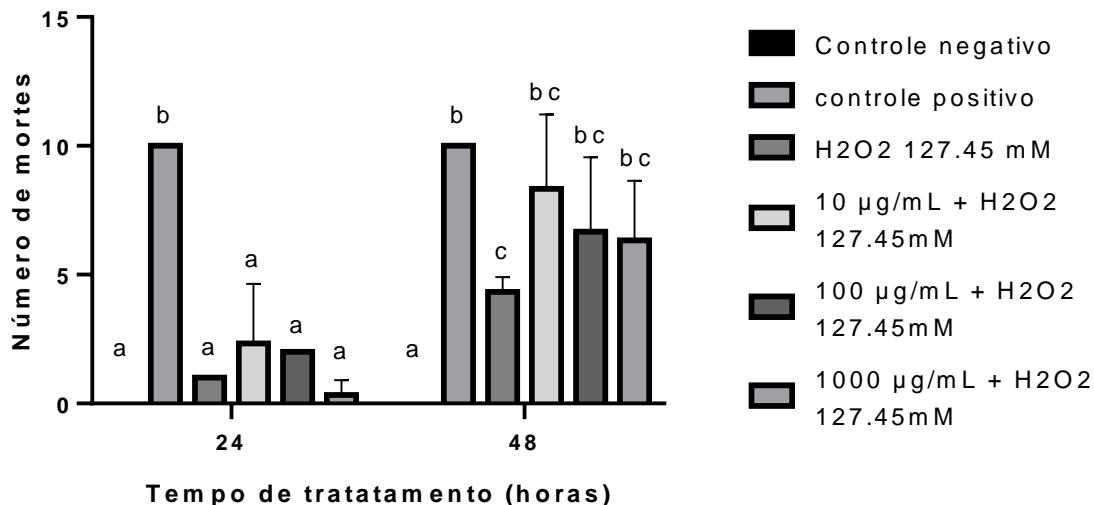
#### **5.4 Efeito protetivo do suco de caju contra a toxicidade induzida por peróxido de hidrogênio em náuplios de *Artemia salina***

O efeito protetor de frutas e hortaliças está relacionado ao seu valor nutricional (BIANCHI e ANTUNES, 1999) e a presença de bioativos com propriedades antioxidantes. Compostos como vitaminas, clorofilina, flavonoides, carotenoides e curcumina são capazes de restringir a propagação de reações em cadeia e lesões induzidas por radicais livres (FOTSIDIS *et al.*, 1997).

Para avaliar precisamente o efeito protetor do suco de caju não processado em relação ao estresse oxidativo desencadeado pelo peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), onde os náuplios foram expostos a 127,45 mM de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> como agente estressor (MIGUEL *et al.*, 2021).

Embora o aumento da concentração de suco tenha levado a uma diminuição no número absoluto de mortes, não foram observadas diferenças significativas entre os grupos estressados com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e os grupos em que o suco foi adicionado, seja em 24 ou 48 h (Fig. 13). Os controles exibiram os mesmos resultados em todos os experimentos.

Figura 13 - Resultados do efeito protetivo do suco de caju *in natura* contra a toxicidade induzida por peróxido de hidrogênio em *Artemia salina*



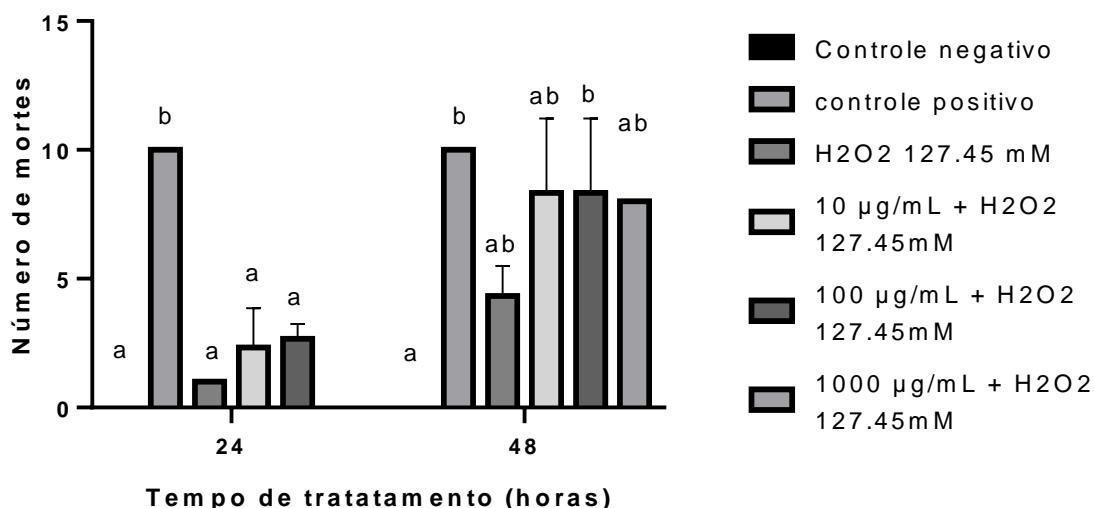
CN - Grupo controle negativo: água do mar artificial; CP - Grupo controle positivo: Dicromato de potássio 0,5M; Grupo somente com o Peróxido de hidrogênio 127,45mM; Grupo do suco de caju *in natura*; Grupo do suco de caju processado por ultrassom; Grupo do suco de caju processado por plasma à 50Hz; Grupo do suco de caju processado por plasma à 1000Hz; - 10, 100 e 1000 µg.mL<sup>-1</sup>.

O valor nutricional (quantidade de vitaminas e compostos antioxidantes) dos alimentos auxilia as enzimas antioxidantes (SOD e CAT) a combater a peroxidação lipídica e proteger o DNA (DEL RÉ e JORGE, 2012).

Além disso, o uso de tecnologias não térmicas pode contribuir para a melhoria do efeito protetor, pois pode aumentar a atividade antioxidante dos alimentos vegetais, devido à maior disponibilidade de compostos bioativos após o processamento (MIGUEL *et al.*, 2021).

Amostras de suco de caju processado por ultrassom, na maior concentração (1000 µg/mL) foram capazes de prevenir a morte dos náuplios em 24 horas de tratamento, diferentemente das demais concentrações. Por outro lado, o tratamento por 48 horas aumentou o número de óbitos em relação ao grupo exposto apenas ao H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Fig. 14)

Figura 14 - Resultados do efeito protetivo do suco de caju processado por ultrassom contra a toxicidade induzida por peróxido de hidrogênio em *Artemia salina*



CN - Grupo controle negativo: água do mar artificial; CP - Grupo controle positivo: Dicromato de potássio 0,5M; Grupo somente com o Peróxido de hidrogênio 127,45mM; Grupo do suco de caju *in natura*; Grupo do suco de caju processado por ultrassom; Grupo do suco de caju processado por plasma à 50Hz; Grupo do suco de caju processado por plasma à 1000Hz; - 10, 100 e 1000 µg.mL<sup>-1</sup>.

Os polifenóis são metabolitos secundários produzidos pelas plantas (ESTEBAN-FERNÁNDEZ *et al.*, 2018). São uma grande família de moléculas de origem natural caracterizadas por mais de um anel fenólico, hidroxilados ou multi-hidroxilados. Na natureza, existe uma vasta diversidade estrutural destes compostos, por isso foram divididos em 4 grupos: ácido fenólico, estilbenos, lignanas e flavonóides (SINGLA *et al.*, 2019).

São altamente conhecidos pelos seus benefícios para a saúde, por terem propriedades antioxidantes e atuarem contra radicais livres (LORENZO *et al.*, 2016). Este produto natural que faz parte da dieta diária, seja em vinhos, chocolates, frutas e legumes, tem um papel preventivo contra várias doenças, como são exemplo, as doenças degenerativas, cardiovasculares e, até mesmo o cancro (ESTEBAN-FERNÁNDEZ *et al.*, 2018; CHENG *et al.*, 2015).

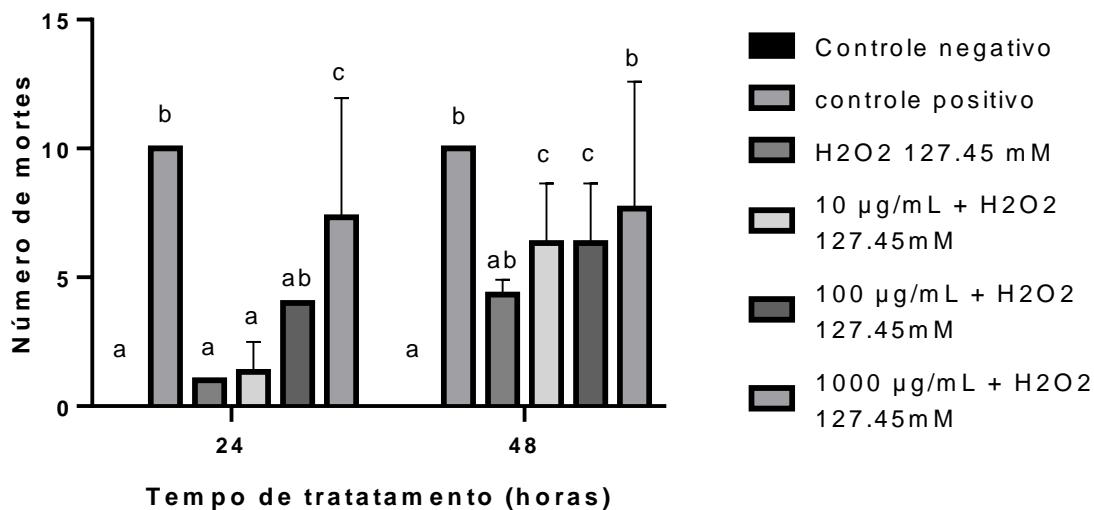
Em geral, os antioxidantes (por exemplo, polifenóis) diminuem o dano oxidativo às biomoléculas e células, contribuindo para reduzir os riscos de doenças relacionadas ao estresse oxidativo, como câncer, doenças cardiovasculares, diabetes, inflamação e doenças degenerativas (ZAPATA *et al.*, 2019; NARDINI e FODAI, 2020).

Com resultados promissores em ensaios *in vitro*, *in vivo* e *in silico*, esses compostos se destacam como terapias alternativas complementares, adjuvantes e até mesmo suplementares no tratamento de diferentes condições, com atividade anti-inflamatória, imunomoduladora e antineoplásica (PARAISO *et al.*, 2020).

Além disso, os polifenóis podem ser eficazes por produzir peróxido de hidrogênio e, com isso, induzir apoptose em células cancerosas por diferentes mecanismos, devido ao seu efeito pró-oxidante (DO CARMO *et al.*, 2018).

O suco de caju processado por plasma frio à 50 Hz não foi capaz de reverter as mortes causadas pelo estressor. Por outro lado, o número de mortes aumentou com o aumento da concentração do suco, para o tratamento 24 horas. Nas 48 horas do experimento, o número de óbitos nos grupos aos quais o suco foi adicionado foi maior do que no grupo exposto apenas ao peróxido de hidrogênio (Fig. 15).

Figura 15 - Resultados do efeito protetivo do suco de caju processado por plasma frio à 50Hz contra a toxicidade induzida por peróxido de hidrogênio em *Artemia salina*



CN - Grupo controle negativo: água do mar artificial; CP - Grupo controle positivo: Dicromato de potássio 0,5M; Grupo somente com o Peróxido de hidrogênio 127,45mM; Grupo do suco de caju *in natura*; Grupo do suco de caju processado por ultrassom; Grupo do suco de caju processado por plasma à 50Hz; Grupo do suco de caju processado por plasma à 1000Hz; - 10, 100 e 1000 µg/mL.

Os vegetais, em particular as frutas, apresentam em sua constituição vários compostos com ação antioxidante. Os principais antioxidantes são as vitaminas C e E, os carotenoides e os compostos fenólicos, especialmente os flavonoides (AHMAD *et al.*, 2020; JIANG e XIONG, 2016).

Dentre os compostos fenólicos naturais, destacam-se os flavonoides e os ácidos fenólicos. Barraza-Garza e colaboradores (2020) mostraram que uma maior quantidade de polifenóis apresentou melhor proteção contra o estresse oxidativo em cultura de células *in vitro*.

Além disso, estudos realizados *in vivo* mostraram evidências de que os compostos fenólicos atuam positivamente no controle da homeostase do organismo, em mecanismos diversos e auxiliando o equilíbrio redox do mesmo. (GRANATO *et al.*, 2020)

A atividade antioxidante que os compostos fenólicos são capazes de oferecer é dependente de fatores como a concentração e o tipo de composto presente. Ainda, a ação pode existir sob a forma de sinergismo entre os diferentes compostos (BODOIRA e MAESTRI, 2020).

O suco e a polpa de caju têm uma quantidade considerável de vitamina C (SILVA *et al.*, 2017). Altos teores de polifenóis, taninos e fibra alimentar também foram relatados (MARIA DO SOCORRO *et al.*, 2010). Além disso, foi relatado que cobre, ferro, zinco e compostos antioxidantes também estão presentes no suco de caju, que foram mais abundantes em comparação com a fibra de caju (LIMA *et al.*, 2014).

Diferentes partes do *A. occidentale* têm forte potência antioxidante. Por exemplo, o extrato etanólico da casca da castanha de caju demonstrou alto teor de fenólicos totais e boa capacidade antioxidante, conforme avaliado pelos ensaios de eliminação de radicais ABTS, eliminação de superóxido, oxidação de desoxirribose e ensaios de peroxidação lipídica (RAJINI, 2011).

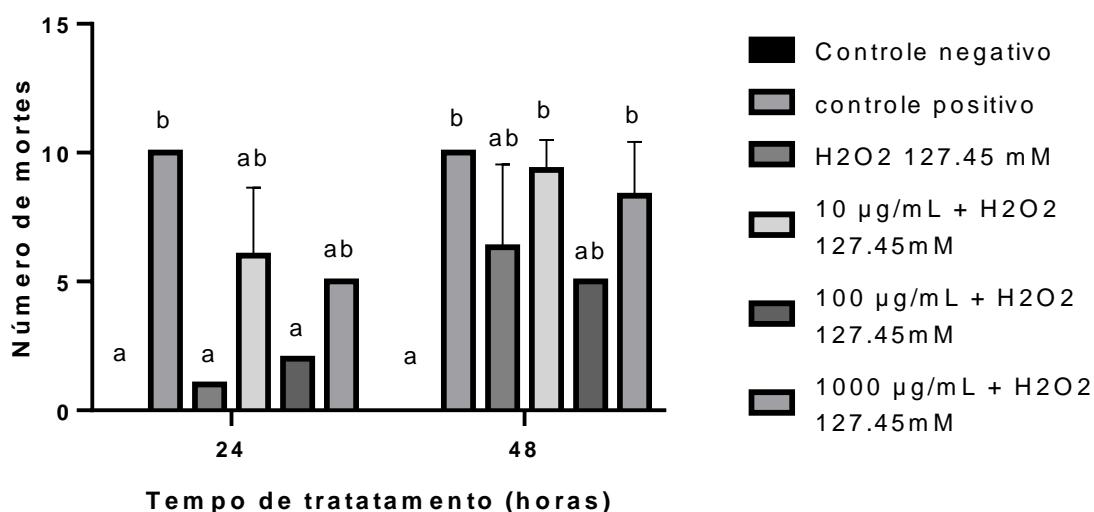
O consumo alimentar de nutrientes antioxidantes desempenha um papel anti-inflamatório, reduzindo o estresse oxidativo e a peroxidação lipídica, auxilia na diminuição da circunferência abdominal (CA); dislipidemia, diminuindo a lipoproteína de baixa densidade (LDL) e aumentando a lipoproteína de alta densidade (HDL); hipertensão arterial (HAS) e resistência à insulina (BRITO *et al.*, 2019).

Dessa forma, foi então realizada o teste do efeito protetivo do suco de caju processado por plasma frio em uma frequência maior à 1000 Hz, para diminuir assim os danos causados pelo agressor no caso o peróxido de hidrogênio em náuplios de *A. salina*.

As amostras de suco de caju processado por plasma frio à 1000 Hz também não foram capazes de reverter os danos causados pelo H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> em 24 e 48h de

interação, porém, as amostras tratadas com 100 µg/mL apresentaram resultado um pouco melhor que as demais (Fig. 16).

Figura 16 - Resultados do efeito protetivo do suco de caju processado por plasma frio à 1000Hz contra a toxicidade induzida por peróxido de hidrogênio em *Artemia salina*



CN - Grupo controle negativo: água do mar artificial; CP - Grupo controle positivo: Dicromato de potássio 0,5M; Grupo somente com o Peróxido de hidrogênio 127,45mM; Grupo do suco de caju *in natura*; Grupo do suco de caju processado por ultrassom; Grupo do suco de caju processado por plasma à 50Hz; Grupo do suco de caju processado por plasma à 1000Hz; - 10, 100 e 1000 µg.mL<sup>-1</sup>.

Há relatos que diferentes substâncias apresentam efeito protetor e minimiza os danos causados por estressores ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) reduzindo o teor de ROS, dentre elas destacam-se a metionina; L-arginina; citocinas; selênio; vitamina C; e Zn, Mn e Cu. O  $\text{H}_2\text{O}_2$  não danifica diretamente substratos orgânicos; mas, esta molécula pode atravessar a membrana celular e produzir grupos hidroxila altamente reativos pela interação com íons como ferro e cobre (AHSAN *et al.*, 2003).

A água de coco tratada com ultrassom fez com que a taxa letal caísse para 16,7% (10 µg/mL), 16% (100 µg/mL) e 5% (1000 µg/mL). A água de coco processada com plasma também foi capaz de prevenir a morte dos náuplios (MIGUEL *et al.*, 2021).

Suco de caju processado por ultrassom 1000 µg/mL, experimento de 24h, foi a única situação capaz de prevenir óbitos. O mirtilo tratado com ozônio foi capaz de ativar um mecanismo de defesa contra o estresse oxidativo (PIECHOWIAK *et al.*, 2020).

O processamento a plasma também aumentou a atividade antioxidante do suco de siriguela (PAIXÃO *et al.*, 2019), porém, estudos *in vivo* não foram realizados para demonstrar tal efeito. Pelo exposto, os efeitos do tratamento na ação protetora dependem muito da matriz alimentar utilizada.

Nos últimos anos, vários estudos foram realizados para buscar os sequestradores de radicais eficientes para vencer o estresse oxidativo (YOSHIOKA *et al.*, 2017). Inúmeros antioxidantes, principalmente de extratos vegetais, têm chamado a atenção para a promoção da saúde (CHOTPHRUETHIPONG *et al.*, 2019).

O caju (*Anacardium occidentale* L.) é uma planta econômica, abundante na parte sul da Tailândia. Várias partes do cajueiro, especialmente as folhas do cajueiro, possuem compostos fenólicos com bioatividades (KAMATH e RAJINI, 2007).

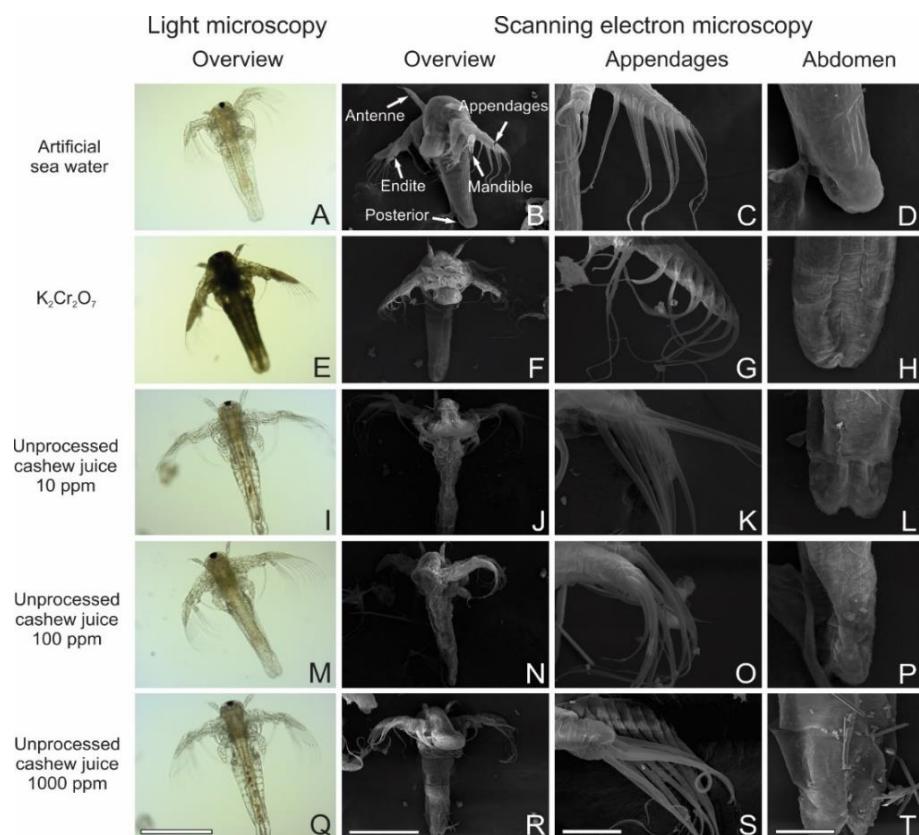
O fruto desta planta, normalmente conhecido como caju, é usado industrialmente para produzir suco. Constituintes fitoquímicos como flavonoides e carotenoides representam um conteúdo importante que pode estar relacionado a atividades biológicas significativas que têm sido utilizadas como medicamentos alternativos para a atenção primária à saúde (KULIS *et al.*, 2012).

## **5.5 Analise morfológicas do ensaio de toxicidade aguda em náuplios instar II de *Artemia salina***

Sob microscopia, nenhum dano morfológico foi observado nos náuplios expostos apenas à água do mar artificial (controle negativo). As principais características desses animais foram a preservação de estruturas principais como antena, endito e mandíbula (Fig. 17A-2B). A estrutura do abdome, região posterior e anexos não sofreram alterações morfológicas (Fig. 17C-2D).

A exposição dos náuplios à situação de controle positivo ( $K_2Cr_2O_7$ ) exibiu algumas alterações morfológicas como enrugamento da superfície, modificação da estrutura do corpo e danos severos à antena, mandíbula e endito (Fig. 17E e F). A região final e apêndices também apresentaram modificações estruturais significativas (Fig. 17G e H).

Figura 17 - Microscopia de luz e eletrônica de varredura de náuplios instar II de *Artemia salina* em teste de toxicidade aguda do suco de caju não processado (10, 100 e 1000 ppm). A, E, I, M e Q – microscopia de luz; B-D, F-H, J-L, N-P, R-T – microscopia eletrônica de varredura. Observe a modificação na estrutura dos náuplios mesmo na microscopia de luz conforme exposto em Q. A microscopia eletrônica de varredura revelou modificações no abdome e apêndices dos náuplios. Barras: A, E, I, M e Q – 300 µm; B-D, F-H, J-L, N-P, R-T – 50 µm.



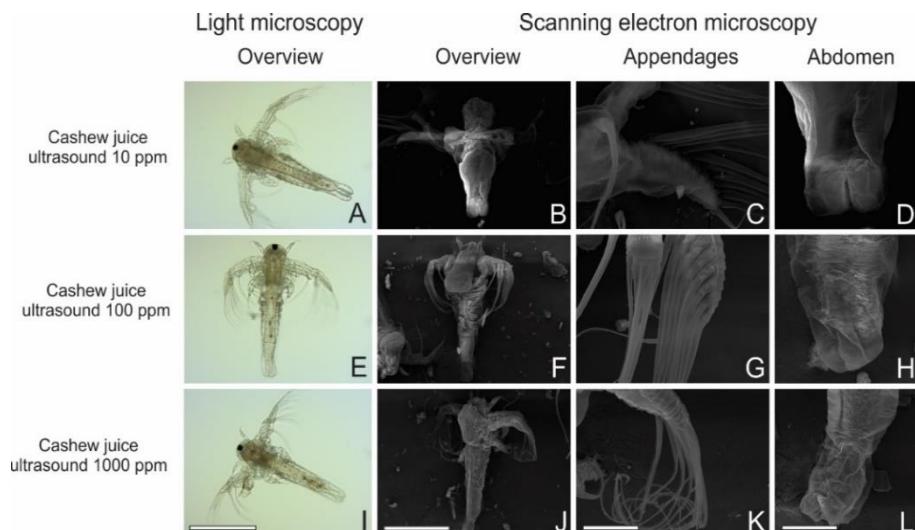
Embora não tenham sido observadas mortes significativas nos náuplios expostos ao suco de caju não processado na concentração de 10 µg/mL e 100 µg/mL, alterações morfológicas relevantes foram observadas em todas as concentrações. As alterações morfológicas podem ser notadas mesmo na microscopia de luz observando-se o tubo digestivo denso (Fig. 17I).

Os náuplios também apresentaram alterações morfológica no corpo, em relação ao controle (Fig. 17J, N e R). Os apêndices estavam deformados (Fig. 17K, O e S). O abdômen e a região posterior sofreram deformação apresentando superfície enrugada (Fig. 17L, P e T).

Os náuplios expostos ao suco de caju processado por ultrassom em 10, 100 e 1000 µg/ml apresentaram o mesmo padrão que os expostos ao suco de caju

processado por plasma frio. A microscopia de luz não revelou alterações morfológicas e teve a preservação das estruturas de sobrevivência (Fig. 18A, E e I), no entanto, a microscopia eletrônica de varredura revelou danos no corpo dos náuplios (Fig. 18B, F e J), apêndices (Fig. 18C, G e K) e abdômen (Fig. 18D, H e L).

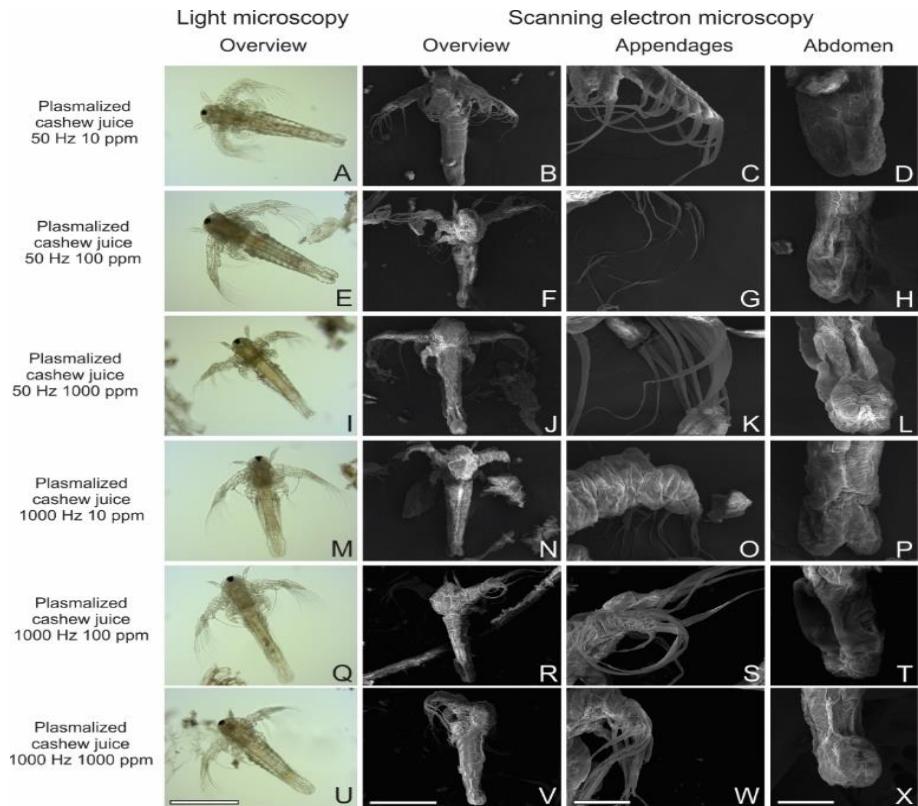
Figura 18 - Microscopia de luz e eletrônica de varredura de náuplios instar II de *Artemia salina* em teste de toxicidade aguda do suco de caju processado por ultrassom. A e B - O suco de caju ultrassonográfico na concentração de 10 µg/mL não apresentou toxicidade para *A. salina*. C - Não foram observados danos aos apêndices. D - Abdome com cutícula preservada. E e F - O suco de caju ultrassonográfico na concentração de 100 µg/mL não apresentou toxicidade para *A. salina*. G – Anexos preservados. H - Abdômen com leve enrugamento da cutícula. I e J - Não foi observada toxicidade em *A. salina* na concentração de 1000 µg/mL. K – Anexos preservados. L - Abdome com cutícula enrugada. Barras: A, B, E, F, I e J - 300 µm; C, D, G, H, K e L - 50 µm.



Náuplios de *A. salina* expostos ao suco de caju processado por plasma frio à 50 Hz, 10 µg/ml exibiram morfologia semelhante em comparação com água do mar artificial (controle negativo) sob microscopia de luz sem alteração morfológica e conservação de apêndices de sobrevivência (Fig. 19A).

No entanto, sob microscopia eletrônica de varredura, a estrutura dos náuplios parece estar comprometida (Fig. 19B). Uma visão mais próxima mostra danos relevantes aos apêndices (Fig. 3C) e abdômen (Fig. 19D).

Figura 19 - Microscopia de luz e eletrônica de varredura de náuplios insta II de *Artemia salina* em teste de toxicidade aguda do suco de caju processado por plasma frio (50 e 1000 Hz). A e B - Não foi observada toxicidade aguda em *A. salina* utilizando suco de caju plasmalizado à 50 Hz na concentração de 10 µg/mL. C - Sem danos aos apêndices. D - Nenhum dano ao abdômen. E e F - Não foi observada toxicidade aguda em *A. salina* utilizando suco de caju plasmalizado à 50 Hz na concentração de 100 µg/mL, porém, foram observados danos ao corpo dos náuplios. G - Anexos danificados. H - Abdômen com leve enrugamento da cutícula. I e J - Não foi observada toxicidade aguda em *A. salina* utilizando suco de caju plasmalizado à 50 Hz na concentração de 1000 µg/mL. K - Sem danos aos apêndices. L - Abdômen com cutícula enrugada e cavidades visíveis. M e N - Não foi observada toxicidade aguda em *A. salina* utilizando suco de caju plasmalizado à 1000 Hz na concentração de 10 µg/mL, porém, foram observados danos ao corpo dos náuplios. O - Anexos com perda de cerdas. P - Abdômen com leve enrugamento da cutícula. Q e R - Não foi observada toxicidade aguda em *A. salina* utilizando suco de caju plasmalizado à 1000 Hz na concentração de 100 µg/mL. S - Sem danos aos apêndices. T - Abdômen com leve enrugamento da cutícula. U e V - Não foi observada toxicidade aguda em *A. salina* utilizando suco de caju plasmalizado à 1000 Hz na concentração de 1000 µg/mL. W - Sem danos aos apêndices. X - Abdome sem lesão de cutícula. Barras: A, B, E, F, I, J, M, N, Q, R, U, V - 300 µm; C, D, G, H, K, L, O, P, S, T, W, X - 50 µm.



Seguindo o mesmo padrão, as amostras expostas ao suco de caju processado por plasma frio à 50 Hz em 100 e 1000 µg/ml e suco de caju processado por plasma frio à 1000 Hz em 10, 100 e 1000 µg.ml não exibiram danos estruturais evidentes sob microscopia de luz (Fig. 19E , I, M, Q e U), mas sob microscopia eletrônica de varredura danos estruturais foram evidentes no corpo dos náuplios (Fig. 19F, J, N, R e V), apêndices (Fig. 19G, K, O, S e W) e abdômen (Fig. 19H, L, P, T e X).

Alterações estruturais em náuplios, como dobras superficiais, modificação na estrutura do corpo, danos na antena, mandíbula e desestruturação do endito, além do aumento da densidade intestinal foram descritas anteriormente.

Essas alterações são semelhantes em *Artemia* que interagem com nanopartículas de prata (ARULVASU *et al.*, 2014), óxido de cobre (MADHAV *et al.*, 2017), alimentos dies (MOTTA *et al.*, 2019) e água de coco processada por ultrassom (MIGUEL *et al.*, 2021) e provavelmente não são reações específicas a compostos tóxicos.

Náuplios de *A. salina* expostos a nanopartículas de TiO<sub>2</sub> e AgTiO<sub>2</sub> exibiram danos oculares graves, formação errática de estruturas corporais, perda de antena e espessamento do sistema digestivo. todo esse dano possivelmente aumenta o ROS nas células (OZKAN *et al.*, 2016).

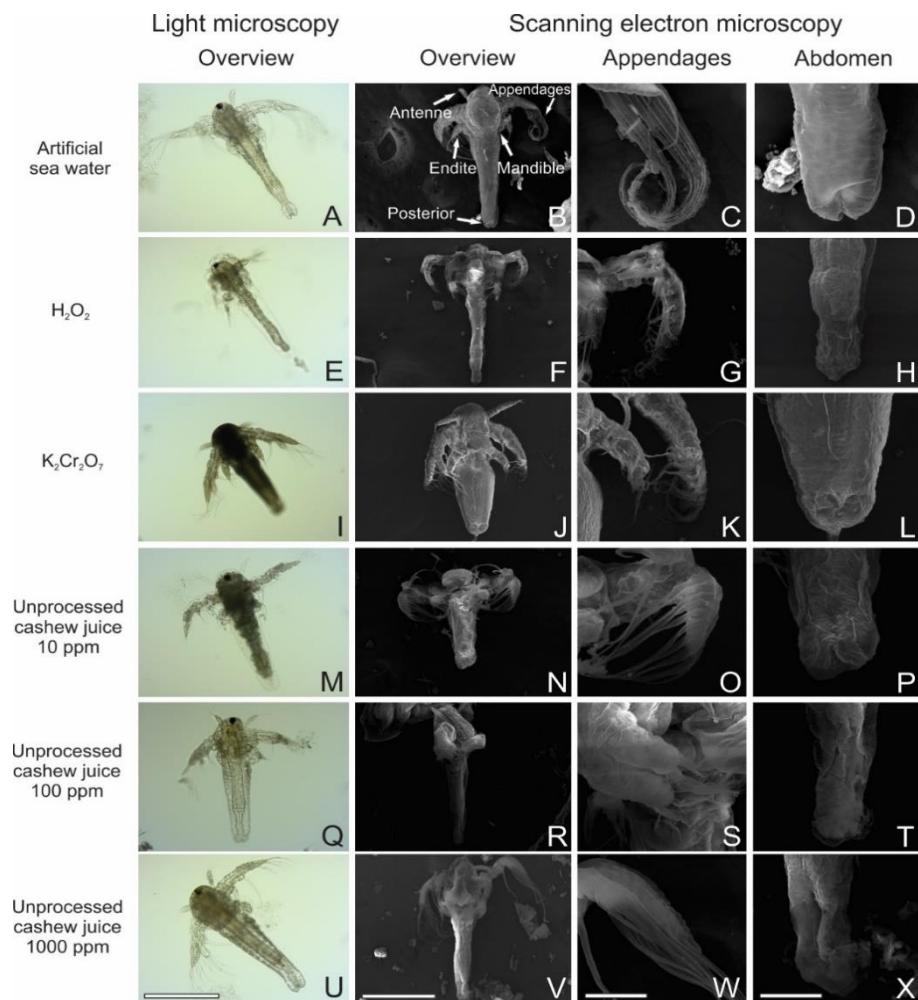
O fato de os sucos de frutas não causarem a morte de indivíduos, mas causarem alteração estrutural nos náuplios de *Artemia salina* em testes agudos reforça a necessidade de estudos de toxicidade crônica e o uso da microscopia eletrônica de varredura, pois a microscopia de luz pode não permitir a observação de características importantes como alteração estrutural dos apêndices e abdome.

## **5.6 Analise morfológica do ensaio do efeito protetivo contra a toxicidade induzida pelo peróxido de hidrogênio em náuplios instar II de *Artemia salina***

Náuplios de *Artemia salina* expostos à água do mar artificial (controle negativo) exibiram morfologia típica sob microscopia óptica (Fig. 20A) e eletrônica de varredura (Fig. 20B-D).

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> causou modificações morfológicas nos náuplios de *A. salina*. A perda de integridade estrutural do corpo foi notada (Fig. 20E-H). O K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> gerou deformações no corpo do animal e perda de estruturas como olho, antena e apêndices, observadas em ambas as técnicas de microscopia (Fig. 20I-L).

Figura 20 - Efeito protetor do suco de caju não processado (10, 100 e 1000 µg/mL) contra H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> em náuplios instar II de *A. salina* em 48 h de exposição. A, B - *A. salina* no grupo controle (água do mar artificial) teve o corpo preservado. C - Anexos preservados. D - Abdômen com cutícula lisa. E e F - Toxicidade aguda foi observada em *A. salina* submetida a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. foram observados danos ao corpo do animal. G – Anexos danificados. H - Abdome com ruptura de cutícula. I e J - Toxicidade aguda foi observada em *A. salina* submetida a K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>. K – Anexos de dano. L - Abdômen com leve enrugamento da cutícula. M e N - Suco de caju não processado na concentração de 10 µg/mL-1 em *A. salina*. danos observados no corpo do animal. O - Não foram observados danos aos apêndices. P - Abdome com cutícula enrugada. Q e R - Suco de caju não processado na concentração de 100 µg/mL em *A. salina*. Nesta concentração, nenhum dano ao corpo de *A. salina*. S - Sem danos aos apêndices. T - Abdome com cutícula enrugada. U e V - Suco de caju não processado na concentração de 1000 µg/mL em *A. salina*. Nesta concentração, nenhum dano ao corpo de *A. salina* foi observado. W – Anexos preservados. X - Abdômen com cutícula preservada. Barras: A, B, E, F, I, J, M, N, Q, R, U, V, W, X - 300 µm; C, D, G, H, K, L, O, P, S, T, X - 50 µm.

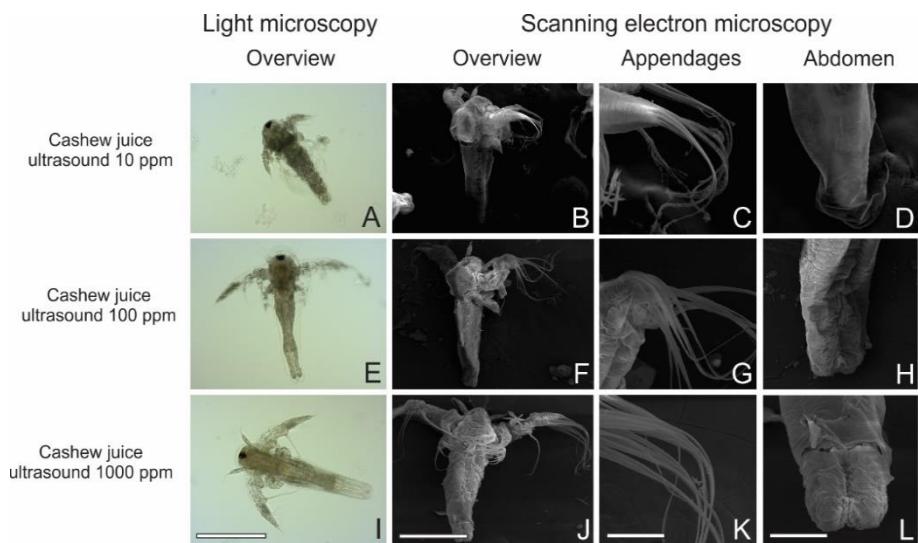


Os náuplios expostos ao suco de caju não processado na concentração de 10 µg.mL apresentaram mudanças estruturais significativas em todo o corpo, incluindo abdômen, antenas e apêndices (Fig. 20N-P).

Os danos estruturais em náuplios expostos a 100 e 1000 µg.mL foram semelhantes aos mencionados acima (Fig. 20Q-X). Náuplios tratados com suco de caju processado por plasma frio à 50 Hz, 10 µg.mL não apresentaram danos significativos em relação ao controle.

*Artemia salina* tratada com suco de caju processado por ultrassom mostrou dano morfológico semelhante ao observado para amostra tratada com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> em todas as concentrações (Fig. 21A-L). Portanto, este tratamento não foi capaz de prevenir danos causados pelo H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

Figura 21 - Efeito protetor do suco de caju processado por plasma frio contra H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (10, 100 e 1000 µg/mL-1) em náuplios instar II de *A. salina* em 48 h de exposição. A e B - O suco de caju ultrassonográfico na concentração de 10 µg/mL mostrando efeito protetor, entretanto, alguns danos foram observados no corpo de *A. salina*. C – Anexos preservados. D - Abdome com lesão na cutícula. E e F - O suco de caju processado por ultrassom na concentração de 100 µg/mL apresentou baixo efeito protetor. G – Cutícula preservada. H - Abdômen com lesão na cutícula. I e J - O suco de caju ultrassonográfico na concentração de 10 µg/mL mostrando efeito protetor, entretanto, alguns danos foram observados no corpo de *A. salina*. K - Anexos preservados. L - Abdômen com lesão na cutícula. Barras: A, B, E, F, I e J - 300 µm; C, D, G, H, K e L - 50 µm.

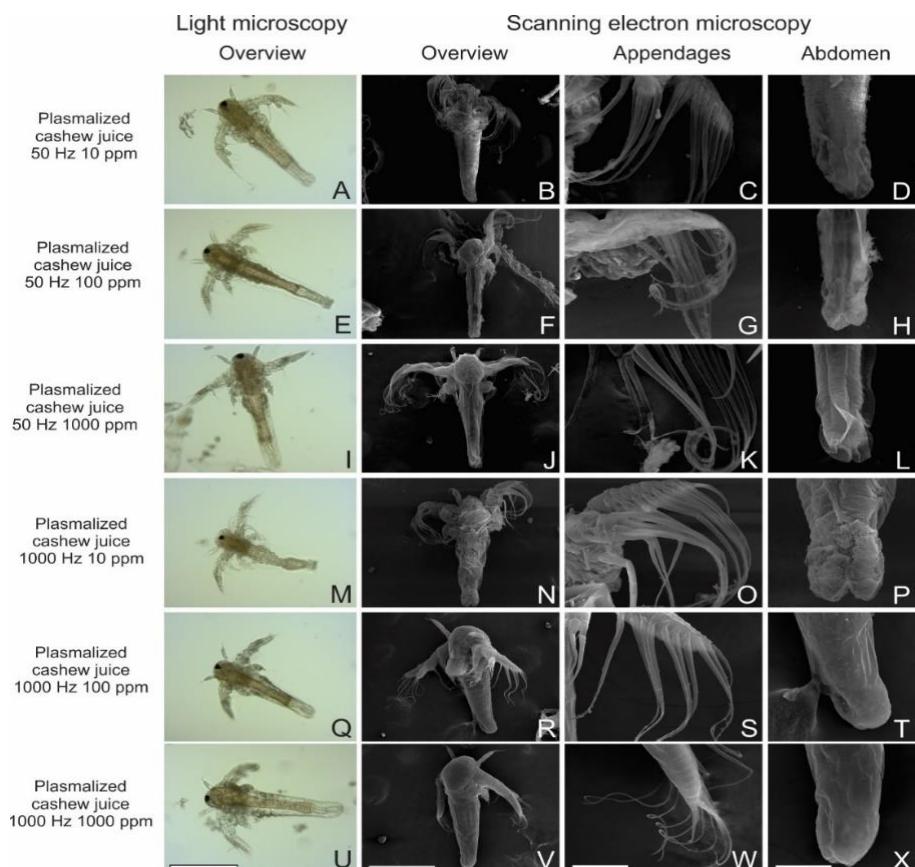


Na concentração de 100 ppm do suco de caju processado por ultrassom apresentou baixo efeito protetor em E e F (Fig. 21 e e f). G – Cutícula preservada. H - Abdômen com lesão na cutícula (Fig. 21 g e h).

O suco de caju na concentração de 10 ppm mostrando efeito protetor, entretanto, alguns danos foram observados no corpo de *Artemia* em I e J (Fig. 21 i e j). K - Anexos preservados. L - Abdômen com lesão na cutícula. Barras: A, B, E, F, I e J - 300 µm; C, D, G, H, K e L - 50 µm (Fig. 21 k e l).

Os corpos individuais mantiveram a forma típica quando observados em microscopia óptica (Fig. 22A) e microscopia eletrônica de varredura (Fig. 22B). Os apêndices apresentavam morfologia típica (Fig. 22C), assim como o abdome (Fig. 22D). A exposição dos indivíduos à 50 Hz, 100 e 1000 µg/mL de suco de caju processado por plasma frio, ao contrário, não preveniu os efeitos indesejáveis do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Fig. 22E-L).

Figura 22 - Efeito protetor do suco de caju processado por plasma frio (50 e 1000 Hz) contra H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> em náuplios instar II de *A. salina* em 48 h de exposição. A e B - Não foi observada toxicidade aguda em *A. salina* utilizando suco de caju plasmalizado à 50 Hz na concentração de 10 µg/mL, mostrando efeito protetor. C – Anexos preservados. D - Abdome com cutícula preservada. E e F - Não foi observada toxicidade aguda em *A. salina* utilizando suco de caju plasmalizado à 50 Hz na concentração de 100 µg/mL. G - Anexos preservados. H - Abdômen com lesão na cutícula. I e J - Não foi observada toxicidade aguda em *A. salina* utilizando suco de caju plasmalizado à 50 Hz na concentração de 1000 µg/mL. K - Anexos preservados. L - Abdome com cavidades aparentes. M e N - Não foi observada toxicidade aguda em *A. salina* utilizando suco de caju plasmalizado 1000 Hz na concentração de 10 µg/mL, porém, foram observados danos ao corpo dos náuplios. O - Anexos preservados. P - Abdômen com cutícula enrugada. Q e R - Não foi observada toxicidade aguda em *A. salina* utilizando suco de caju plasmalizado à 1000 Hz na concentração de 100 µg/mL. S - Anexos preservados. T - Abdome com cutícula preservada. U e V - Não foi observada toxicidade aguda em *A. salina* utilizando suco de caju plasmalizado à 1000 Hz na concentração de 1000 µg/mL. W – Anexos preservados. X - Abdômen com cutícula preservada. Barras: A, B, E, F, I, J, M, N, Q, R, U, V - 300 µm; C, D, G, H, K, L, O, P, S, T, W, X - 50 µm.



Organismos expostos ao suco de caju plasmolisado a 1000 Hz também não foram capazes de prevenir danos do agente oxidante, porém, à medida que a concentração do suco aumentou, os danos morfológicos foram evitados (Fig. 22Q-X).

O dano no corpo dos náuplios sob exposição a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> provavelmente foi relacionado ao incremento de ROS. Uma possibilidade de diminuição de ROS na célula deve ser o equilíbrio de espécies reativas e enzimas antioxidantes totais (SNEZHINA *et al.*, 2019) o que ao contrário do que aconteceu neste estudo.

Compostos e extratos têm sido usados para proteger *Artemia salina* de moléculas oxidativas. Um exemplo disso é um biossurfactante de *S. lentus* que pode proteger os náuplios contra o *Vibrio harveyi*. No entanto, após 48 h de exposição ao patógeno, observou-se um aumento na taxa de mortalidade (SNEZHINA *et al.* 2019). Este é o primeiro relato de toxicidade do suco de caju usando modelos *in vivo*.

Choi (2017) estudou o efeito tóxico do extrato de semente de toranja em *A. salina*. Embora não tenham sido avaliadas alterações morfológicas, os extratos apresentaram forte efeito larvicida.

Segundo Sarker Apu e colaboradores (2013) diferentes frações de folhas, flores e frutos de *Solanum sisymbriifolium* e *Jatropha gossipyfolia* também foram tóxicas para *A. salina*. A maior parte dos estudos de toxicidade no modelo de *Artemia* são realizados em náuplios do instar II, embora alguns estudos investiguem muitos estágios da vida, incluindo adultos (MADHAV *et al.*, 2017).

Isso se justifica pelo fato de os náuplios do instar I serem menos sensíveis em comparação com os náuplios do instar II (OCARANZA-JOYA *et al.*, 2019). Essa diferença se deve ao fato de os náuplios do instar I não poderem incorporar tóxicos pelo trato digestivo, uma vez que a boca e o ânus ainda estão fechados (OCARANZA-JOYA *et al.*, 2019). Por esta razão, o uso de náuplios instar II pode avaliar a toxicidade com mais precisão (MIGUEL *et al.*, 2021).

## 5.6 Determinação da CL50

Foi realizada a determinação da CL50 para analisar qual concentração dos alimentos avaliados seria suficiente para inviabilizar 50% dos náuplios de *Artemia salina* e podemos perceber que o suco processado por plasma frio à 50 Hz nas concentrações (10, 100 e 1000 µg/mL) apresentaram médias da CL50 de 0, 0 e 7,3 respectivamente.

Utilizando o suco de caju processado por plasma frio em uma frequência maior à 1000 Hz, também foi feito a determinação da CL50 para analisar qual a concentração dos alimentos seria suficiente para inviabilizar 50% dos náuplios de *Artemia salina* e podemos perceber que o suco processado por plasma frio à 1000 Hz nas concentrações testadas (10, 100 e 1000 µg/mL) apresentaram médias da CL50 de 0,3, 0 e 6,3 respectivamente.

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esse trabalho mostrou que o suco de caju processado não termicamente por ultrassom não causou mortalidade de náuplios de *Artemia salina* no teste de toxicidade, porém alterações estruturais foram observadas. Nenhum efeito protetivo contra o estresse oxidativo foi observado para esta amostra.

Plasma à 50 e 1000Hz provocaram óbitos significativos e alterações estruturais relevantes na morfologia dos náuplios, porém, os óbitos foram parcialmente revertidos no teste que avaliou o possível efeito protetivo dos sucos testados, bem como alterações estruturais, principalmente em 1000 Hz na maior concentração 1000 µg/mL.

Embora a amostra processada por ultrassom não tenha causado mortes no teste de toxicidade, a morfologia dos náuplios foi modificada. Os resultados sugerem que o tratamento com plasma frio pode conferir a formação de algumas substâncias tóxicas no suco de caju, enquanto o tratamento com ultrassom é menos prejudicial, considerando o modelo de *Artemia salina*.

O resultado da aplicação de tratamentos não térmicos aos alimentos depende da matriz utilizada. Mais estudos são necessários para investigar os produtos gerados pelas tecnologias de processamento não térmico do suco de caju.

## REFERÊNCIAS

- ABRAFRUTAS. Brasil é o terceiro maior produtor de frutas do mundo, diz Abrafrutas. **2021.** Disponível em: <https://abrafrutas.org/2019/03/brasil-e-o-terceiro-maior-produtor-de-frutas-do-mundo-diz-abrafrutas/>. Acesso em: 24 fev. 2022.
- ADIGA, J. D.; MURALIDHARA B. M.; PREETHI, P.; SAVADI, S.; Phenological growth stages of the cashew tree (*Anacardium occidentale* L.) according to the extended BBCH scale. **Annals of Applied Biology**, [s.l.], 1-7, 2019.
- AHMAD, P. **Oxidative Damage to Plants**. Chapter 4: Catalase. Elsevier Inc, 2014.
- AHMAD, S.; ZEB, A.; AYAZ, M.; MURKOVIC, M. Characterization of phenolic compounds using UPLC–HRMS and HPLC–DAD and anti-cholinesterase and anti-oxidant activities of *Trifolium repens* L. leaves. **European Food Research Technology**, [s.l.], 246(3), 485-96, 2020.
- AHSAN, H.; ALI, A.; ALI, R. Oxygen free radicals and antioxidants. **The American journal of nursing**, [s.l.], (131), 389–404, 2003.
- ALENYOREGE, E. A.; MA, H.; AYIM, I.; AHETO, J. H.; HONG, C.; ZHOU, C. Reduction of *Listeria innocua* in fresh-cut Chinese cabbage by a combined washing treatment of sweeping frequency ultrasound and sodium hypochlorite. **LWT - Food Science and Technology**, [s.l.], 101, 410–418, 2019.
- ALMEIDA, F. D. L.; GOMES, W. F.; CAVALCANTE, R. S.; TIWARI, B. K.; CULLEN, P. J.; FRIAS, J. M.; RODRIGUES, S. Fructooligosaccharides integrity after atmospheric cold plasma and high-pressure processing of a functional orange juice. **Food Research International**, [s.l.], 102, 1-39, 2017.
- ALVARENGA, P. D. L.; CAVATTI, L. S.; VALIATI, B. S.; MACHADO, B. G.; CAPUCHO, L. C.; DOMINGOS, M. M.; SILVA, M. N.; VIEIRA, M. S.; SÃO JOSÉ, J. F. B. Application of ultrasound in fruits and vegetables processing. **Brazilian Journal of Food Technology**, [s.l.], 24, e2020274, 2021.
- ALVARENGA, P. D. L.; VASCONCELOS, C. M.; SÃO JOSÉ, J. F. B. Application of ultrasound combined with acetic acid and peracetic acid: Microbiological and physicochemical quality of strawberries. **Molecules**, [s.l.], 26(1), 1-16, 2020.
- ALVES FILHO, E. G., SILVA, L. M. A., OIRAM FILHO, F., RODRIGUES, S., FERNANDES, F. A. N., GALLÃO, M. I., MATTISON, C. P.; DE BRITO, E. S. Cold plasma processing effect on cashew nuts composition and allergenicity. **Food Research International**, [s.l.], 125, 1-37, 2019.
- ALVES FILHO, E. G.; SILVA, L. M. A.; DE BRITO, E. S.; WURLITZER, N. J.; FERNANDES, F. A. N.; RABELO, M. C.; FONTELES, T. V.; RODRIGUES, S. Evaluation of thermal and nonthermal processing effect on non-prebiotic and prebiotic acerola juices using 1H qNMR and GC–MS coupled to chemometrics. **Food Chemistry**, [s.l.], 265, 23–31, 2018.

ALVES FILHO, E. G.; SOUSA, V. M.; RODRIGUES, S.; DE BRITO, E. S.; FERNANDES, F. A. N. Green ultrasound-assisted extraction of chlorogenic acids from sweet potato peels and sonochemical hydrolysis of caffeoylquinic acids derivatives. **Ultrasonics Sonochemistry**, [s.l.], 63, 1-25, 2020.

ALVES, J. F. P. **Ensaio de toxicidade das beatas de cigarro na água utilizando Artemia Francesa**. 2021. 45 f. Dissertação (Mestrado em Biologia e Gestão da Qualidade da Água) – Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, Porto, 2021.

AN, H. J.; SARKHEIL, M.; PARK, H. S.; YU, I. J.; JOHARI, S. A. Comparative toxicity of silver nanoparticles (AgNPs) and silver nanowires (AgNWs) on saltwater microcrustacean, *Artemia salina*. **Comparative Biochemistry and Physiology Part - C: Toxicology and Pharmacology**, [s.l.], 218, 62–69, 2019.

ANANTHANARASIMHAN, J.; LAKSHMINARAYANA, R.; ANAND, M.S.; DASAPPA, S. Influence of gas dynamics on arc dynamics and the discharge power of a rotating gliding arc. **Plasma Sources Sci. Technol.**, [s.l.], 28(8), 1-22, 2019.

ANAYA-ESPARZA, L. M.; VELÁZQUEZ-ESTRADA, R. M.; ROIG, A. X.; GARCÍAGALINDO, H. S.; SAYAGO-AYERDI, S. G.; MONTALVO-GONZÁLEZ, E. Thermosonication: An alternative processing for fruit and vegetable juices. **Trends in Food Science & Technology**, [s. l.], (61), 2017b.

ANAYA-ESPARZA, L. M.; VELAZQUEZ-ESTRADA, R. M.; SAYAGO-AYERDI, S. G.; SANCHEZ-BURGOS, J. A.; RAMÍEREZ-MARES, M. V.; GARCÍA-MAGANA, M. L.; MONTALVO-GONZALEZ, E. Effect of thermosonication on polyphenol oxidase inactivation and quality parameters of soursop néctar. **LWT - Food Science and Technology**, [s.l.], 75, 545-551, 2017a.

ARAÚJO, J. M. D.; DA SILVA, A. P.; CÂNDIDO, M. B.; DA SILVA, T. W. M.; JÚNIOR, F. P. A. Ethnopharmacological study of *Anacardium occidentale*: a brief review. **Research, Society and Development**, [s.l.], 9(8), 1-18, 2020.

*Artemia salina* (Linnaeus, 1758) in GBIF Secretariat. (2019). GBIF Backbone Taxonomy. Checklist dataset. Disponível em: <https://doi.org/10.15468/39omei>. Acesso em: 06 set. 2020.

ARULVASU, C.; JENNIFER, S. M.; PRABHU, D.; CHANDHIRASEKAR, D. Toxicity effect of silver nanoparticles in brine shrimp *Artemia*. **The Scientific World Journal**, [s.l.], 1-11, 2014.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE REFRIGERANTES E DE BEBIDAS NÃO ALCOÓLICAS. **Volume de produção do mercado brasileiro de néctares e sucos prontos dos anos de 2010 a 2017**. [s.l.]: ABIR, 2019. Disponível em: <https://abir.org.br/>. Acesso em: 18 jun. 2021.

BARBOSA, Filipa Ferreira da Silva. **Influência dos antioxidantes na qualidade do sémen de homens em tratamento de fertilidade**. 2009. 69 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Humana e Ambiente) – Universidade de Lisboa, Lisboa, 2009.

BARRAZA-GARZA, G.; PÉREZ-LEÓN, J. A.; CASTILLO-MICHEL, H.; DE LA ROSA, L. A.; MARTINEZ, A.; COTTE, M.; ALVAREZ-PARRILLA, E. Antioxidant effect of phenolic compounds (PC) at different concentrations in IEC-6cells: A spectroscopic analysis. **Biomolecular Spectroscopy**, [s.l.], 227, 1-8, 2020.

BARRETTO, T. L.; POLLONIO, M. A. R.; TELIS-ROMERO, J.; DA SILVA BARRETO, A. C. Improving sensory acceptance and physicochemical properties by ultrasound application to restructured cooked ham with salt (NaCl) reduction. **Meat Science**, [s.l.], 145, 55-62, 2018.

BATISTA, K. S.; ALVES, A. F.; LIMA, M. S.; SILVA, L. A.; LINS, P. P.; GOMES, J. A. S.; SILVA, A. S.; TOSCANO, L. T.; MEIRELES, B. R. L. A.; CORDEIRO, A. M. T. M.; CONCEIÇÃO, M. L.; SOUZA, E. L.; AQUINO, J. S. Beneficial effects of consumption of acerola, cashew or guava processing by-products on intestinal health and lipid metabolism in dyslipidaemic female Wistar rats. **British Journal of Nutrition**, [s.l.], 119(1), 30-41, 2018.

BERISTAÍN-BAUZA, S.; MARTÍNEZ-NINO, A.; RAMÍREZ-GONZÁLEZ, A. P.; ÁVILA-SOSA, R.; RUÍZ-ESPINOSA, H.; RUIZ-LÓPEZ, I. I.; OCHOA-VELASCO, C. E. Inhibition of *Salmonella* Typhimurium growth in coconut (*Cocos nucifera* L.) water by hurdle technology. **Food Control**, [s.l.], 92, 312–318, 2018.

BERMUDEZ-AGUIRRE, D. Advances in the inactivation of microorganisms and viruses in food and model systems using cold plasma. In: **Advances in Cold Plasma Applications for Food Safety and Preservation**, [s.l.], 49–91, 2020.

BEVILACQUA, A.; PETRUZZI, L.; PERRICONE, M.; SPERANZA, B.; CAMPANELLO, D.; SINIGAGLIA, M.; CORBO, M. R. Nonthermal Technologies for Fruit and Vegetable Juices and Beverages: Overview and Advances. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, [s.l.], 17, 2–62, 2018.

BHOOMIKA, H. R.; SUDHA, R. N. Problems and prospects of cashew cultivation in India - An overview. **International Journal Current Microbiology and Applied Sciences**, [s.l.], 7(10), 3687–3694, 2018.

BIANCHI, M. L. P.; ANTUNES, L. M. G. Liberação de mercúrio de tecidos humanos armazenados em solução de formalina. **Revista de Nutrição**, [s.l.], 12(2), 123-130, 1999.

BINOTI, M. L.; RAMOS, A. M. Conservação de alimentos: uma visão mais saudável. **HU Revista**, [s.l.], 41(3), 171-179, 2015.

BODOIRA, R.; MAESTRI, D. Phenolic Compounds from Nuts: Extraction, Chemical Profiles and Bioactivity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s.l.], 68(4), 927-942, 2020.

BOMBANA, V. B.; ORO, G. E. D.; RIGO, D.; POLINA, C. C.; DENTI, A. F.; TRES, B. P.; WISNIEWSKI, M. S. W.; STEFFENS, J.; PAROUL, N.; DALLAGO, R. M.; BACKES, G. T.; CANSIAN, R. L. Influence of drying on bioactive compounds and

antioxidant activity of fruits of guabiju (*Myrcianthes pungens*). **Research, Society and Development**, [s.l.], 10(8), 1-14, 2021.

BRAINER, M. S. C. P.; VIDAL, M. F. Cajucultura Nordestina em recuperação; Caderno Setorial ETENE. **Banco do Nordeste-BNB**, [s.l.n.], ano 5, n. 114, 2020.

BRASIL. Agência nacional de Vigilância Sanitária. Ministrério da Saúde. **Decreto nº 6.871 de 4 de junho de 2009**. Regulamenta a lei nº. 8.918, de 4 de junho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção e a fiscalização da produção e do comércio de bebidas. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Poder executivo, Brasília, DF, jun. 2009.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 243**, de 26 de julho de 2018. Dispõe sobre os requisitos para composição, qualidade, segurança e rotulagem dos suplementos alimentares e para atualização das listas de nutrientes, substâncias bioativas, enzimas e probióticos, de limites de uso, de alegações e de rotulagem complementar destes produtos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 27. 144, Seção 1, 100, jul. 2018.

Brasil. Ministério da Agricultura e do Abastecimento (2018). Resolve: **Fica estabelecida em todo o território nacional a complementação dos Padrões de Identidade e Qualidade de Suco e Polpa de Fruta**, na forma desta Instrução. Normativa (Instrução Normativa nº 49). Disponível em:  
<https://alimentusconsultoria.com.br>. Acesso em: 22 jun. 2021.

BRITTO, R. P. A.; VEIGA, R. S.; MARCUCCI, M. C. Potencial terapêutico do açafrão (*Crocus sativus L.*) na síndrome metabólica. **Revista de Fitoterapia**, [s.l.], 18(2), 139-147, 2019.

CAMPELO, P.H.; FILHO, E.G.A.; SILVA, L.M.; BRITO, E.S.; RODRIGUES, S.; FERNANDES, F.A. Modulation of aroma and flavor using glow discharge plasma technology. **Innov. Innovative Food Science and Emerging Technologies**, [s.l.], 62, 1-11, 2020.

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

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

CARDOSO, N. R. P. **Análise do consumo de frutas e derivados no município de Belém, Estado do Pará**. 2020. 83 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal Rural da Amazônia, Amazônia, 2020.

CARMO, M. A. V.; PRESSETE, C. G.; MARQUES, M.J.; GRANATO, D.; AZEVEDO, L. Polyphenols as potential antiproliferative agents: scientific trends. **Current Opinion in Food Science**, [s.l.], 24, 26–35, 2018.

CARVALHO, A. P. A.; CONTE-JUNIOR, C. A. Health benefits of phytochemicals from Brazilian native foods and plants: Antioxidant, antimicrobial, anti-cancer, and risk factors of metabolic/endocrine disorders control. **Trends in Food Science & Technology**, [s.l.], 111, 534-548, 2021.

CARVALHO, D. V.; GALLÃO, M. I.; BRITO, E. S. OBESIDADE e fibra dietética: destaque para a fibra de caju. **Brazilian Journal of Development**, São Paulo, 6(7), 43474-43488, 2020.

CASSIDY, A. Berry anthocyanin intake and cardiovascular health. **Molecular Aspects of Medicine**, [s.l.], 1-7, 2017.

CASTRO, A. J. G.; BAPTISTA, I. E.; MOURSA, K. R.; PADILHA, F.; TONIETTO, J.; SOUZA, A. Z.; SOARES, C. H. L.; SILVA, F. R. M.; VAN DER KRAAK, G. Comparative Biochemistry and Physiology, Part C Exposure to a Brazilian pulp mill effluent impacts the testis and liver in the zebrafish. **Comparative Biochemistry and Physiology Part - C Toxicology Pharmacology**, [s.l.], 206-207, 41–47, 2018.

CATTAFESTA, M.; PETARLI, G. B.; DA LUZ, T. C.; ZANDONADE, E.; BEZERRA, O. M. P. A.; SALAROLI, L. B. Dietary patterns of Brazilian farmers and their relation with sociodemographic, labor, and lifestyle conditions. **Nutrition Journal**, [s.l.], 19(23), 1-16, 2020.

CHEMAT, F.; ROMBAUT, N.; MEULLEMIESTRE, A.; TURK, M.; PERINO, S.; TIXER-FABIANO, A. S.; ABERT-VIAN, M. Review of green food processing +techniques. preservation, transformation, and extraction. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, [s.l.], 41, 357–377, 2017.

CHENG, L.; LI, J.; HE, L.; ZHOU, X. Natural products and caries prevention. **Caries Research**, [s.l.], 49, 38–45, 2015.

CHOI, A.; HÁ, K.; JOUNG, H.; SONG, Y. Frequency of Consumption of Whole Fruit, Not Fruit Juice, Is Associated with Reduced Prevalence of Obesity in Korean Adults. **Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics**, [s.l.], 119(11), 1842-1851, 2019.

CHOI, J. S. Larvicidal effects of grapefruit seed extract (GSE) on brine shrimp *Artemia salina*. **Toxicology and Environmental Health Sciences**, [s.l.], 9(3), 209–214, 2017.

CHOTPHRUETHIPONG, L.; BENJAKUL, S.; KIJROONGROJANA, K. Ultrasound assisted extraction of antioxidative phenolics from cashew (*Anacardium occidentale* L.) leaves. **Journal of Food Science and Technology**, [s.l.], 56(4), 1785–1792, 2019.

CINTAS, P. Ultrasound and green chemistry– Further comments. **Ultrasonics sonochemistry**, [s.l.], 28, 257–258, 2016.

CONAB. Acompanhamento da Safra Basileira 2019/20. **Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos 2019/20**, 2019.

CONSTANTIN, M.; MIOARA, D. *Artemia salina*. **Balneo-Research Journal**, [s.l.], 2(4), 119-122, 2011.

CORATO, U. Improving the shelf-life and quality of fresh and minimally-processed fruits and vegetables for a modern food industry: A comprehensive critical review from the traditional technologies into the most promising advancements. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, [s.l.], 60(6), 940-975, 2020.

COUTINHO, N. M.; SILVEIRA, M. R.; ROCHA, R. S.; MORAES, J.; FEREIRA, M. V. S.; PIMENTEL, T. C. et al. Cold plasma processing of milk and dairy products. **Trends in Food Science and Technology**, [s.l.], 74, 56–68, 2018.

COUTINHO, N. M. **PROCESSAMENTO DE BEBIDA LÁCTEA ACHOCOLATADA PELA TECNOLOGIA DE PLASMA FRIO**. 2019. 123 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2019.

CRIEL, G. R. J.; MACRAE, T. H. Artemia Morphology and Structure. **Artemia: Basic and Applied Biology**, [s.l.], 1–37, 2002.

CRUZEIRO, C.; ROCHA, E.; JOÃO, M. Determination of 54 pesticides in waters of the Iberian Douro River estuary and risk assessment of environmentally relevant mixtures using theoretical approaches and *Artemia salina* and *Daphnia magna* bioassays. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [s.l.], 145, 126–134, 2017.

DASAN, B. G.; MUTLU, M.; BOYACI, I. H. Decontamination of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* spores on hazelnuts via atmospheric pressure fluidized bed plasma reactor. **International Journal of Food Microbiology**, [s.l.], 216, 50–59, 2016.

DEL RÉ, P. V.; JORGE, N. Espéciarias como antioxidantes naturais: Aplicações em alimentos e implicação na saúde. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, [s.l.], 14(2), 389-399, 2012.

DJEKIC, I.; SANJUÁN, N.; CLEMENTE, G.; JAMBRAK, A. R.; DJUKIĆ-VUKOVIĆ, A.; BRODNJAK, U. V.; POP, E.; THOMOPOULOS, R.; TONDA, A. Review on environmental models in the food chain - Current status and future perspectives. **Journal Of Cleaner Production**, [s.l.], 176, 1012-1025, 2018.

DOLAS, R.; SARAVANAN, C.; KAUR, B. P. Emergence and era of ultrasonic's in fruit juice preservation: A review. **Ultrasonics Sonochemistry**, [s.l.], 58, 1-43, 2019.

DUMITRASCU, M. *Artemia salina*. **Balneo Research Journal**, [s.l.], 2(4), 119–122, 2011.

ESTEBAN-FERNÁNDEZ, A.; ZORRAQUÍN-PENÍA, I.; FERRER, M. D.; MIRA, A.; BARTOLOMÉ, B.; DE LLANO, D. G.; MORENO-ARRIBAS, M. V. Inhibition of Oral Pathogens Adhesion to Human Gingival Fibroblasts by Wine Polyphenols Alone and

in Combination with an Oral Probiotic. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s.l.], 66(9), 2071–2082, 2018.

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

FAO. **Cashew nut**. 2020. Disponível em:  
<http://www.fao.org/3/X5043E/x5043E06.htm>. Acesso em: 19 jan. 2021.

**FAOSTAT - Food and Agriculture Organization of the United Nations**. Production. (2022). Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data>. Acesso em: 15 abr. 2022.

FARBER, R. DABUSH-BUSHERI, I.; CHANIEL, G.; ROZENFELD, S.; BORMASHENKO, E.; MULTANEN, V.; CAHAN, R. Biofilm grown on wood waste pretreated with cold low-pressure nitrogen plasma: Utilization for toluene remediation. **International Biodeterioration & Biodegradation**, [s.l.], 139, 62–69, 2019.

FERNANDES, F. A. N.; RODRIGUES, S. Cold plasma processing on fruits and fruit juices: A review on the effects of plasma on nutritional quality. **Processes**, Basileia, v. 9, 1 dez. 2021. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2227-9717/9/12/2098>. Acesso em: 27 fev. 2022.

FERNANDEZ, A.; THOMPSON, A. The inactivation of *Salmonella* by cold 544 atmospheric plasma treatment. **Food Research International**, [s.l.], 45(2), 545 678-684, 2012.

FINNEY, D. J. **Probit analysis**. 3. ed. Cambridge University Press, Cambridge, 1971.

FONTELES, T.; LEITE, A. K.; MIGUEL, T.; FERNANDES, F.; PINHEIRO, S.; MIGUEL, E.; RODRIGUES, S. Optimization of Sonication Parameters to Produce a Cashew Apple Bagasse Puree Rich in Superoxide Dismutase. **Foods**, [s.l.], 11(17), 1-16, 2022.

FOTSI, T.; PEPPER, M. S; AKTAS, E.; BREIT, S.; RASKU, S.; ADLERCREUTZ, H.; WÄHLÄ, K.; MONTESANO, R.; SCHWEIGERER, L. Flavonóides, inibidores da proliferação celular e angiogênese in vitro derivados da dieta. **Pesquisa do Câncer**, [s.l.], 57(14), 2916-2921, 1997.

FRATIANNI, A.; CINQUANTA, L.; PANFILI, G. Degradation of carotenoids in orange juice during microwave heating. **LWT - Food Science and Technology**, [s.l.], 43(6), 867- 871, 2010.

FREITAS, A. P. **Avaliação da qualidade de suco de acerola adicionado de emulsão de óleo essencial de laranja (*Citrus sinensis*) e quitosana**. 2019. 68 f.

TCC (Bacharel em Nutrição) - Universidade Federal de Pernambuco, Vitória de Santo Antão, 2019.

FU, L. XU, B. T.; XU, X. R.; GAN, R. Y.; ZHANG, Y.; XIA, E. Q.; LI, H. B. Antioxidant capacities and total phenolic contents of 62 fruits. **Food Chemistry**, [s.l.], 129(2), 345–350, 2011.

FYFE, S.; SMYTH, H. E.; SCHIRRA, H. J.; RYCHLIK, M.; SULTANBAWA, Y. The Nutritional Potential of the Native Australian Green Plum (*Buchanania obovata*) Compared to Other Anacardiaceae Fruit and Nuts. **Frontiers in Nutrition**, Switzerland, 7, 1-14, 2020.

GAMBARDELLA, C.; COSTA, E.; PIAZZA, V.; FABBROCINI, A.; MAGI, E.; FAIMALI, M.; GARAVENTA, F. Effect of silver nanoparticles on marine organisms belonging to different trophic levels. **Marine Environmental Research**, [s.l.], 111, 41–49, 2015.

GAVAHIAN, M.; KHANEHGAH, A. M. Cold plasma as a tool for the elimination of food contaminants: Recent advances and future trends. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, [s.l.], 60(9), 1581–1592, 2019.

GNANARAJ, C.; SHAH, M. D.; SONG, T.; IGBAL, M. Hepatoprotective mechanism of *Lygodium microphyllum* (Cav.) R.Br. through ultrastructural signaling prevention against carbon tetrachloride (CCl<sub>4</sub>)-mediated oxidative stress. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, [s.l.], 92, 1010-1022, 2017.

GOTTFREDSEN, R. H.; LARSEN, U. G.; ENGHILD, J. J.; PETERSEN, S. V. Hydrogen peroxide induce modifications of human extracellular superoxide dismutase that results in enzyme inhibition. **Redox Biology**, [s.l.], 1(1), 24–31, 2013.

GRANATO, D.; MOCAN, A.; CAMARA, J. S. Is a higher ingestion of phenolic compounds the best dietary strategy? A scientific opinion on the deleterious effects of polyphenols *in vivo*. **Trends in Food Science Technology**, [s.l.], 98, 162-166, 2020.

GUTNER-HOCH, E.; MARTINS, R.; MAIA, F.; OLIVEIRA, T.; SHPIGEL, M.; WEIS, M.; TEDIM, J.; BENAYAHU, Y. Toxicity of engineered micro- and nanomaterials with antifouling properties to the brine shrimp *Artemia salina* and embryonic stages of the sea urchin *Paracentrotus lividus*. **Environmental Pollution**, [s.l.], 251, 530–537, 2019.

HAMRUN, N.; NABILAH, T.; HASYIM, R.; RUSLIN, M.; DAMMA, I.; ARIANTO, M. A. A. Toxicity Test of Bioactive Red Alga Extract *Eucheuma spinosum* on Shrimp *Artemia salina* Leach. **Systematic Reviews in Pharmacy**, [s.l.], 11(5), 672-676, 2020.

HERB, M.; SCHRAMM, M. Functions of ROS in macrophages and antimicrobial immunity. **Antioxidants**, [s.l.], 10(2), 1-39, 2021.

HERMES-LIMA, M.; WILLMORE, W. G.; STOREY, K. B. Quantification of lipid peroxidation in tissue extracts based on Fe (III)xylenol orange complex formation. **Free Radical Biology and Medicine**, [s.l.], 19(3), 271–280, 1995.

HERTWIG, C.; MENESSES, N.; MATHYS, A. Cold atmospheric pressure plasma and low energy electron beam as alternative nonthermal decontamination technologies for dry food surfaces: A review. **Trends in Food Science and Technology**, [s.l.], 77, 131–142, 2018.

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

IBGE. Produção de Castanha de Caju. Disponível em:  
<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/6588#resultado>. Acesso em: 08 fev. 2023.

ICB-Instituto Caju Brasil. **O agronegócio caju em números**. [s.l.], boletim n. 4, fer. 2020; disponível em: [https://cajubrasil.org/wp-content/uploads/2020/02/Boletim-ICB\\_4.pdf](https://cajubrasil.org/wp-content/uploads/2020/02/Boletim-ICB_4.pdf). Acesso em: 10 mar. 2022.

IGUAL, M.; GARCÍA-MARTÍNEZ, E.; CAMACHO, M. M.; MARTÍNEZ-NAVARRETE, N. Changes in Flavonoid Content of Grapefruit Juice caused by Thermal Treatment and Storage. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, [s.l.], 12(2), 153-162, 2011.

ILLERA, A. E.; CHAPLE, S.; SANZ, M. T.; NG, S.; LU, P.; JONES, J.; BOURKE, P. Effect of cold plasma on polyphenol oxidase inactivation in cloudy apple juice and on the quality parameters of the juice during storage. **Food Chemistry**, [s.l.], 3, 1-41, 2019.

IQDIAM, B. M.; ABUAGELA, M. O.; BOZ, Z.; MARSHALL, S. M.; GOODRICH-SCHNEIDER, R.; SIMS, C. A.; MARSHALL, M. R.; MACINTOSH, A. J.; WELT, B. A. Effects of atmospheric pressure plasma jet treatment on aflatoxin level, physiochemical quality, and sensory attributes of peanuts. **Journal of Food Processing and Preservation**, [s.l.], 44(1), 1–11, 2019.

JABBAR, S.; ABID, M.; HU, B.; WU, T.; HASHIM, M. M.; LEI, S.; ZENG, X. Quality of carrot juice as influenced by blanching and sonication treatments. **LWT – Food Science and Technology**, [s.l.], 55(1), 16–21, 2014.

JAMBRAK, A. R.; SIMUNEK, M.; EVACIC, S.; MARKOV, K.; SMOLJANIC, G.; FRECE, J. Influence of high power ultrasound on selected moulds, yeasts and *Alicyclobacillus acidoterrestris* in apple, cranberry and blueberry juice and nectar. **Ultrasonics**, [s.l.], 83, 3-17, 2018.

JAMNIK, P.; RASPOR, P. Stress response of yeast candida intermedia to Cr (VI). **Journal of Biochemical and Molecular Toxicology**, [s.l.], 17(6), 316-323, 2003.

JEMEC, A.; TIŠLER, T.; DROBNE, D.; SEPČIĆ, K.; JAMNIK, P.; ROŠ, M. Biochemical biomarkers in chronically metal-stressed daphnids. **Comparative**

**Biochemistry and Physiology - C Toxicology Pharmacology**, [s.l.], 147(1), 61–68, 2008.

JIANG, J.; XIONG, Y. Natural antioxidants as food and feed additives to promote health benefits and quality of meat products: A review. **Meat Science**, [s.l.], 120, 107-117, 2016.

JIANG, Z.Y.; WOOLLARD, A. C. S.; WOLFF, S. P. Lipid hydroperoxide measurement by oxidation of Fe<sup>2+</sup> in the presence of xylenol orange. Comparison with the TBA assay and an iodometric method. **Lipids**, [s.l.], 26, 853–856, 1991.

JIMÉNEZ, C. D. C.; FLORES, C. S.; HE, J.; TIAN, Q.; SCHWARTZ, S. J.; GIUST, M. M. Characterisation and preliminary bioactivity determination of *Berberis boliviiana* Lechler fruit anthocyanins. **Food Chemistry**, [s.l.], 128(3), 717-724, 2011.

KALAYCIOĞLU, Z.; ERİM, F. B. Total phenolic contents, antioxidant activities, and bioactive ingredients of juices from pomegranate cultivars worldwide. **Food Chemistry**, [s.l.], 221, 496-507, 2017.

KAMATH, V.; RAJINI, P. S. Altered glucose homeostasis and oxidative impairment in pancreas of rats subjected to dimethoate intoxication. **Toxicology**, [s.l.], 231(2), 137–146, 2007.

KAUSHAL, J.; SINGH, S. G.; RAINA, A.; ARYA, S. K. Catalase Enzyme: Application in Bioremediation and Food Industry. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, [s.l.], 16, 192-199, 2018.

KHANDPUR, P.; GOGATE, P. R. Evaluation of ultrasound based sterilization approaches in terms of shelf life and quality parameters of fruit and vegetable juices. **Ultrasonics Sonochemistry**, [s.l.], 29, 337–353, 2016.

KHANI, M. R.; SHOKRI, B.; KHAJEH, K. Studying the performance of dielectric barrier discharge and gliding arc plasma reactors in tomato peroxidase inactivation. **Journal Of Food Engineering**, [s.l.], 197, 107-112, 2017.

KOKKALI, V.; KATRAMADOS, I.; NEWMAN, J. D. Monitoring the Effect of Metal Ions on the Mobility of *Artemia salina* Nauplii. **Biosensors** (Basel), 28, 1(2), 36-45, 2011.

KONO, Y. Generation of superoxide radical during autoxidation of hydroxylamine and an assay for superoxide dismutase. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, [s.l.], 186(1), 189–195, 1978.

KULIS, M.; MACQUEEN, I.; LI, Y.; GUO, R.; ZHONG, X. P.; BURKS, A. W. Pepsinized cashew proteins are hypoallergenic and immunogenic and provide effective immunotherapy in mice with cashew allergy. **The Journal of Allergy and Clinical Immunology**, [s.l.], 130(3), 716–723, 2012.

KULKARNI, A.A.; CONTEH, A. M.; SORRELL, C. A.; MIRMIRA, A.; TERSEY, S. A.; MIRMIRA, R. G.; LINNEMANN, A. K.; ANDERSON, R. M. An in vivo zebrafish model

for interrogating ROS-mediated pancreatic  $\beta$ -cell injury, response, and prevention. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, [s.l.], 1-9, 2018.

LACERDA, B. F. C. **Modelos computacionais para avaliação preditiva de ecotoxicidade em *Artemia salina***. 2019. 44 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) – Centro Universitário de Anápolis, Goiás, 2019.

LAROQUE, D. A.; SÉO, S. T.; VALENCIA, G. A.; LAURINDO, J. B.; CARCIOFI, B. A. M. Cold plasma in food processing: Design, mechanisms, and application. **Journal of Food Engineering**, [s.l.], 312, 1-24, 2022.

LEE, G. J.; SIM, G. B.; CHOI, E. H.; KWON, Y-W.; KIM, J. Y.; JANG, S.; KIM, S. H. Optical and structural properties of plasma-treated *Cordyceps bassiana* spores as studied by circular dichroism, absorption, and fluorescence spectroscopy. **Journal of Applied Physics**, [s.l.], 117(2), 1–13, 2015.

LEITE FILHO, M.T.; MARTINS, J. H.; MATA, M. E. R. M. C.; DA SILVA, A. L. C.; MARTINS, I. T. A. Cinética de secagem de resíduos agro-industriais de abacaxi: uma nova abordagem. **Brazilian Journal of Development**, [s.l.], 6(1), 3928-3949, 2020.

LEITE, A. K. F.; FONTELES, T. V. B. A. R.; MIGUEL, T.; SILVESTRE DA SILVA, G., SOUSA DE BRITO, E., ALVES FILHO, E. G.; FERNANDES, F. A. N.; RODRIGUES, S. Atmospheric cold plasma frequency imparts changes on cashew apple juice composition and improves vitamin C bioaccessibility. **Food Research International**, [s.l.], 147, 1-13, 2021.

LEMOS, A. F. S.; GALVÃO, E. L. **Obtenção do extrato das folhas do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) A partir de diferentes técnicas de extração**. 2019. 13 f. TCC (Trabalho de conclusão de curso em Ciências Exatas e da Terra) - Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, 2019.

LEPAUS, B. M.; JOSÉ, J. F. B. S. **Fundamentos e atualidades em tecnologia e inspeção de alimentos [livro eletrônico]**. / Organizadora: Lina Raquel Santos Araújo. Fortaleza: Editora In Vivo, 2020.

LES, F.; PRIETO, J. M.; ARBONÉS-MAINAR, J. M.; VALERO, M. S.; LÓPEZ, V. Bioactive properties of commercialised pomegranate (*Punica granatum*) juice: Antioxidant, antiproliferative and enzyme inhibiting activities. **Food and Function**, [s.l.], 6, 2049–2057, 2015.

LIAO, X.; LIU, D.; XIANG, Q.; AHN, J.; CHEN, S.; YE, X.; DING, T. Inactivation mechanisms of non-thermal plasma on microbes: A review. **Food Control**, [s.l.], 75, 83–91, 2017.

LIMA, A. C. S.; SOARES, D. J.; SILVA, L. M. R.; DE FIGUEIREDO, R. W.; SOUSA, P. H. M.; MENEZES, E. D. *In vitro* bioaccessibility of copper, iron, zinc and antioxidant compounds of whole cashew apple juice and cashew apple fibre (*Anacardium occidentale* L.) following simulated gastro-intestinal digestion. **Food Chem**, [s.l.], 161, 142–147, 2014.

LIMA, A. J. B., CORRÊA, A. D., ALVES, A. P. C., ABREU, C. M. P., DANTAS-BARROS, A. M., Caracterização química do fruto jabuticaba (*Myrciaria cauliflora* Berg) e de suas frações. **Archivos Latino americanos de Nutrición**, [s.l.], 58(4), 416-421, 2008.

LIMA, L. L. A.; SILVA, A. M. O.; FERREIRA, I. M.; NUNES, T. P.; CARVALHO, M. G. Néctar misto de umbu (*Spondias tuberosa* Arr. Câmera) e mangaba (*Hancornia Speciosa* Gomes): elaboração e avaliação da qualidade. **Braz. Journal of Food Science and Technology**, [s.l.], 21, 1-8, 2018.

LIU, C. M.; PENG, Q.; ZHONG, J. Z.; LIU, W.; ZHONG, Y. J.; WANG, F. Molecular and Functional Properties of Protein Fractions and Isolate from Cashew Nut (*Anacardium occidentale* L.). **Molecules**, [s.l.], 23(2), 1-15, 2018a.

LIU, Z.; REN, Z.; ZHANG, J.; CHUANG, C-C.; KANDASWAMY, E.; ZHOU, T.; ZUO, L. Nutritional Antioxidants in Oxidative Diseases. **Frontiers in Physiology**, [s.l.], 9, 1-14, 2018b.

LORENZO, A.; BLOISE, N.; MENEGHINI, S.; SUREDA, A.; TENORE, G. C.; VISAI, L.; ARCIOLA, C. R.; DAGLIA, M. Effect of winemaking on the composition of red wine as a source of polyphenols for antiinfective biomaterials. **Materials (Basel)**, [s.l.], 9(5), 1-19, 2016.

MADHAV, M. R., DAVID, S. E. M., KUMAR, R. S. S., SWATHY, J. S., BHUVANESHWARI, M., MUKHERJEE, A., CHANDRASEKARAN, N. Toxicity and accumulation of Copper oxide (CuO) nanoparticles in different life stages of *Artemia salina*. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, [s.l.], 52, 227–238, 2017.

MAGRO, L. D. **Desenvolvimento de biocatalisadores compostos por pectinases e celulases imobilizadas para a clarificação de sucos de frutas**. 2020. 309 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2020.

MAIA, G. A.; SILVA, L. M. R.; PRADO, G. M.; FONSECA, A. V. V.; SOUSA, P. H. M.; DE FIGUEREDO, R. W. 5 - Development of mixed beverages based on tropical fruits. Non-Alcoholic Beverages. **The Science of Beverages**, [s.l.], 129-162, 2019.

MANGELA, T.; MARTINS, A. BENEFÍCIOS DA VITAMINA C NA PELE. **Enciclopédia Biosfera**, [s.l.], 18(35), 41-55, 2021.

MANSFIELD, C. M.; ALLOY, M. M.; HAMILTON, J.; VERBECK, G. F.; NEWTON, K.; KLAINER, S. J.; ROBERTS, A. P. Photo-induced toxicity of titanium dioxide nanoparticles to *Daphnia magna* under natural sunlight. **Chemosphere**, [s.l.], 120, 206-210, 2015.

MANZOOR, M. F.; AHMAD, N.; AADIL, R. M.; RAHAMAN, A.; AHMED, Z.; REHMAN, A.; MANZOOR, A. Impact of pulsed electric field on rheological, structural, and physicochemical properties of almond milk. **Journal of Food Process Engineering**, [s.l.], 42(8), 1-11, 2019.

MARIA DO SOCORRO, M. R.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; TABERNERO, M.; ALVES RE, B. E. S, SAURA-CALIXTO, F. Acerola and cashew apple as sources of antioxidants and dietary fibre. **International Journal of Food Science & Technology**, [s.l.], 45, 2227–2233, 2010.

MARTÍNEZ-FLORES, H. E., GARNICA-ROMO, M. G., BERMÚDEZ-AGUIRRE, D., POKHREL, P. R., & BARBOSA-CÁNOVAS, G. V. Physico-chemical parameters, bioactive compounds and microbial quality of thermo-sonicated carrot juice during storage. **Food Chemistry**, [s.l.], 172, 650–656, 2015.

MARTINS, A. B. G.; SILVA, A. C. C.; CHIAMOLERA, F. M.; Propagação da cultura do caju. **Revista Brasileira de Fruticultura**, [s.l.], 41(4), 2019.

MARTINS, A. C. R.; DA COSTA, J. K. N.; HERBERT, A.; FARIA, F. R. S.; REZENDE, M.; JUNIOR, V. A. K.; DE GEUS, J. L. Avaliação da toxicidade das tinturas de aroeira e de romã através do bioensaio com *Artemia salina*. **J Research, Society Development**, [s.l.], 10(3), 1-9, 2021.

MAURYA, R.; NAMDEO, M. **Superoxide dismutase: A key enzyme for the survival of intracellular pathogens in host**. In Reactive Oxygen Species; Ahmad, R., Ed.; Intech Open Limited: London, UK, 2021.

MELO, C. F. A.; BRAGA, F. F. S.; OLIVEIRA, H. A. L.; ALMEIDA, M. N. Desafios em uma propriedade familiar de produção de caju no interior do Nordeste. **Brazilian Journal of Development**, [s.l.], 4(6), 3135-3146, 2018.

MENA, P.; VEGARA, S.; MARTÍ, N.; GARCÍA-VIGUERA, C.; SAURA, D.; VALERO, M. Changes on Indigenous Microbiota, Colour, Bioactive Compounds and Antioxidant Activity of Pasteurized Pomegranate Juice. **Food Chemistry**, [s.l.], 141(3), 2122-2129, 2013.

MEYER, B. N.; FERRIGNI, N. R.; PUTNAM, J. E.; JACOBSEN, L. B.; NICHOLS, D. J.; MC LAUGHLIN, J. L. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. **Planta Médica**, [s.l.], 45(5), 31-34, 1982.

MIGUEL, T. B. A. R.; PORTO, E. C. M.; PINHEIRO, S. K. P.; MIGUEL, E. C.; FERNANDES, F. A. N.; RODRIGUES, S. Protective Effect of Natural and Processed Coconut Water by Non-thermal Technologies Against Oxidative Stress in Brine Shrimp (*Artemia salina*). **Food and Bioprocess Technology**, [s.l.], 14, 702–716, 2021.

MISRA, N. N.; KAUR, S.; TIWARI, B. K.; KAUR, A.; SINGH, N.; CULLEN, P. J. Atmospheric pressure cold plasma (ACP) treatment of wheat flour. **Food Hydrocolloids**, [s.l.], 44, 115 – 121, 2015.

MISRA, N.N.; MARTYNENKO, A.; CHEMAT, F.; PANIWNYK, L.; BARBA, F.J.; JAMBRAK, A.R. Thermodynamics, transport phenomena, and electrochemistry of external field-assisted nonthermal food technologies. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, [s.l.], 58(11), 1832–1863, 2018.

MONTEIRO, C. A.; CANNON, G.; LEVY, R. B.; MOUBARAC, J. C.; LOUZADA, M. L.; RAUBER, F.; KHANDPUR, N.; CEDIEL, G.; NERI, D.; MARTINEZ-STEELE, E. Ultra-processed foods: what they are and how to identify them. **Public Health Nutrition**, [s.l.], 22(5), 936-941, 2019.

MONTEIRO, C. A.; CANNON, G.; LEVY, R.; MOUBARAC, J. C.; JAIME, P.; MARTINS, A. P. Classificação dos alimentos. Saúde Pública. NOVA. A estrela brilha. **Word Nutrition**, [s.l.], 7(1-3), 28-40, 2016.

MORGANA, S.; ESTÉVEZ-CALVAR, N.; GAMBARDELLA, C.; FAIMALI, M.; GARAVENTA, F. A short-term swimming speed alteration test with nauplii of *Artemia franciscana*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [s.l.], 147, 558–564, 2018.

MORRIS, A. D.; ERISIR, A.; CRISWELL, S. J.; KUCENAS, S. Transmission electron microscopy of zebrafish spinal motor nerve roots. **Developmental Dynamics**, [s.l.], 246(11), 956–962, 2017.

MOTTA, C. M.; SIMONIELLO, P.; ARENA, C.; CAPRIELLO, T.; PANZUTO, R.; VITALE, E.; AGNISOLA, C.; TIZZANO, M.; AVALLONE, B.; FERRANDINO, I. Effects of four food dyes on development of three model species, *Cucumis sativus*, *Artemia salina* and *Danio rerio*: Assessment of potential risk for the environment. **Environmental Pollution**, [s.l.], 253, 1126-1135, 2019.

MUGONI, V.; CAMPOREALE, A.; SANTORO, M. M. Analysis of oxidative stress in Zebrafish embryos. **Journal of Visualized Experiments**, [s.l.], 89, 1–11, 2014.

MUNEKATA, P. E. S.; DOMINGUEZ, R.; PATEIRO, M.; LORENZO. J. M. Influence of plasma treatment on the polyphenols of food products – A review. **Foods**, [s.l.], 9(7), 1-14, 2020.

NARDINI, M.; FODDAI, M. S. Phenolics profile and antioxidant activity of special beers. **Molecules**, [s.l.], 25(11), 1-15, 2020.

NIVEDITHA, R.; PANDISELVAM, R.; PRASATH, V. A.; SINGH, S. K.; GUL, K.; KOTHAKOTA, A. Application of cold plasma and ozone technology for decontamination of *Escherichia coli* in foods- a review. **Food Control**, [s.l.], 130, 1-11, 2021.

NOGUEIRA, A. M. P.; FIGUEIRA, R.; IMAIZUMI, V. M.; FILHO, W. G. V. Avaliação físico-química e legislação brasileira de polpas, sucos tropicais e néctares de goiaba comerciais. **Energia na Agricultura, Botucatu**, [s.l.], 35(1), 136-142, 2020.

NOVAES, T. E. R.; NOVAES, A. S. R. Análise dos potenciais medicinais do cajueiro (*Anacardium occidentale* Linn): uma breve revisão. **Research, Society and Development**, [s.l.], 10(1), 1-8, 2021.

NUNES, B. S.; CARVALHO, F. D.; GUILHERMINO, L. M.; STAPPEN, G. V. Use of the genus *Artemia* in ecotoxicity testing. **Environmental Pollution**, [s.l.], 144(2), 453–462, 2006.

OCARANZA-JOYA, V. S.; MANJARREZ-ALCIVAR, I.; RUIZGONZÁLEZ, L. E.; GUERRERO-GALVÁN, S. R.; VEGA-VILLASANTE, F. Sensitivity of different stages of Artemia franciscana to potassium dichromate. **Pan-American Journal of Aquatic Sciences**, [s.l.], 14(1), 8–12, 2019.

OJHA, K. S.; TIWARI, B. K.; O'DONNELL, C. P. Effect of Ultrasound Technology on Food and Nutritional Quality. In: **Advances in Food and Nutrition Research**, [s.l.], 84, 207-240, 2018.

OLGA, A. A. A.; SOULEYMANE, T.; FATOUMATA, C.; GBOGORI, G. A.; KOUAKOU, B. Evaluation of technological treatments impact on nutritional value and anti-nutritional factors of cashew kernel-based flour (*Anacardium occidentale*) grown in Côte d'Ivoire. **International Journal of Food Science and Nutrition**, [s.l.], 3(1), 20–28, 2018.

OLIVEIRA, P. S.; CHAVES, V. C.; SOARES, M. S. P.; BONA, N. P.; MENDONÇA, L. T.; CARVALHO, F. B.; GUTIERRES, J. M.; VASCONCELLOS, F. A.; VIZZOTTO, M.; VIEIRA, A.; SPANEVELLO, R. M.; REGINATTO, F. H.; LENCINA, C. L.; STEFANELLO, F. M. Southern Brazilian native fruit shows neurochemical, metabolic and behavioral benefits in an animal model of metabolic syndrome. **Metabolic Brain Disease**, [s.l.], 33, 1551-1562, 2018.

OLIVEIRA, T. C. **Elaboração de biscoitos com adição de farinha do resíduo de maracujá amarelo**. 2019. 53 f. TCC (Bacharel em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Rio Grande do Norte, 2019.

OLUBODE, T. J. O. A.; IBRAHIM, K. O.; AKINOLA, M. O.; OJO, F. K.; OYELEKE, E. O. Sensory properties of sausage roll produced from cashew nut butter. **IOSR Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology**, [s.l.], 14(2), 10–13, 2020.

OLUYOLE, K. A.; AGBENIYI, S. O.; AYEBONYIN, K. O. Competitiveness of Cashew Production in Nigeria. **International Journal of Research in Agriculture and Forestry**, [s.l.], 4(8), 1-7, 2017.

OSTMAN, A.; BOHMER, F. D. Regulation of receptor tyrosine kinase signaling by protein tyrosine phosphatase-1B. **Trends in Cell Biology**, [s.l.], 11(6), 258–266, 2001.

ÖZKAN, Y., ALTINOK, I., ILHAN, H., SOKMEN, M. Determination of TiO<sub>2</sub> and AgTiO<sub>2</sub> Nanoparticles in Artemia salina: Toxicity, Morphological Changes, Uptake and Depuration. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, [s.l.], 96(1), 36–42, 2016.

PAIXÃO, L. M. N., FONTELES, T. V., OLIVEIRA, V. S., FERNANDES, F. A. N., RODRIGUES, S. Cold plasma effects on functional compounds of siriguela juice. **Food and Bioprocess Technology**, [s.l.], 12(1), 110–121, 2018.

PALLANT, J.; SANDS, S.; KARPEN, I. Product customization: A profile of consumer demand. **Journal of Retailing and Consumer Services**, [s.l.], 54, 1-10, 2020.

PARAISO, I. L.; REVEL, J. S.; STEVENS, J. F. Potential use of polyphenols in the battle against COVID-19. **Current Opinion in Food Science**, [s.l.], 32, 149–155, 2020.

PAZ, I. P.; COELHO, A. A. M.; ASCIMENTO, S. P.; OLIVEIRA, S. A.; ROSA, D. S.; COSTA, M. M.; NASCIMENTO, J. M. L. Toxicidade do extrato vegetal, óleo essencial e hidrolato das plantas *Zingiber officinale Roscoe* e *Allium sativum L.*. **Brazilian Journal of Development**, [s.l.], 8(2), 14318-14329, 2022.

PERERA, C. O.; PERERA, A. D. Technology of Processing of Horticultural Crops. **Handbook of Farm, Dairy and Food Machinery Engineering**, [s.l.], 299-351, 2019.

PIECHOWIAK, T.; SKÓRA, B.; BALAWEJDER, M. Ozone Treatment Induces Changes in Antioxidative Defense System in Blueberry Fruit During Storage. **Food and Bioprocess Technology**, [s.l.], 13, 1240–1245, 2020.

PORTO, E.; ALVES, E. G. F.; SILVA, L. M. A.; FONTELES, T. V.; DNASCIMENTO, R. B. R.; FERNANDES, F. A. N.; DE BRITO, E. S.; RODRIGUES, S. Ozone and plasma processing effect on green coconut water. **Food Research International**, [s.l.], 131, 1-9, 2020.

PRASAD, P.; MEHTA, D.; BANSAL, V.; SANGWAN, R. S. Effect of atmospheric cold plasma (ACP) with its extended storage on the inactivation of *Escherichia coli* inoculated on tomato. **Food Research International**, [s.l.], 102, 402-408, 2017.

PUTNIK, P.; BURSAĆ KOVACHEVIĆ, D.; HERCEG, K.; ROOHINEJAD, S.; GREINER, R.; BEKHIT, A. E. D. A.; LEVAJ, B. Modelling the shelf-life of minimally-processed fresh-cut apples packaged in a modified atmosphere using food quality parameters. **Food Control**, [s.l.], 81, 55-64, 2017.

PUTNIK, P.; KRESOJA, Z.; BOSILJKOV, T.; JAMBRAK, A. R.; BARBA, F. J.; LORENZO, J. M.; ROOHINEJAD, S.; GRANADO, D.; ZUNTAR, I.; KOVACEVIC, D. B. Comparing the effects of thermal and non-thermal technologies on pomegranate juice quality: A review. **Food Chemistry**, [s.l.], 279, 150–161, 2019.

QASIM, M.; KHUDHUR, F. W.; AIDAN, A.; DARWISH, N. A. Ultrasound-assisted forward osmosis desalination using inorganic draw solutes. **Ultrasonics Sonochemistry**, [s.l.], 61, 1-36, 2020.

RAHMAN, M. F.; PRATAMA, A. A. Synthesis of Organonitrogen Compounds from Eugenol through The Ritter Reaction and The Toxicity Test on *Artemia salina* Leach. In **IOP Conference Series: Materials Science and Engineering**, [s.l.], 546(4), 1-7, 2019.

RAJINI, P. S. Cashew nut (*Anacardium occidentale* L.) skin extract as a free radical scavenger. In: Preedy VR, Watson RR, Patel VB. editors. **Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention**. San Diego, 301–308, 2011.

RAMOS, M. O.; DA CRUZ, F. T.; COELHO-DE-SOUZA, G. Inclusão socioprodutiva e legislação sanitária. **Raízes: Revista De Ciências Sociais E Econômicas**, [s.l.], 41(2), 323-341, 2021.

REKULAPALLY, R.; CHAVALI, L. N. M.; IDRIS, M. M.; SINGH, S. Toxicity of TiO<sub>2</sub>, SiO<sub>2</sub>, ZnO, CuO, Au and Ag engineered nanoparticles on hatching and early nauplii of *Artemia* sp. **PeerJ**, [s.l.], 6(1), 1-20, 2019.

RIBEIRO, C. W.; KORBES, A. P.; GARIGHAN, J. A.; MESSEDER, D. J.; CARVALHO, F. E. L.; SOUSA, R. H. V.; CAVERZAN, A.; TEIXEIRA, F. K.; SILVEIRA, J. A. G.; PINHEIRO, M. M. Rice peroxisomal ascorbate peroxidase knockdown affects ROS signaling and triggers early leaf senescence. **Plant Science**, [s.l.], 263, 55-65, 2017.

ROCHA, E. C.; SARTORI, C. A.; NAVARRO, F. F. A aplicação de alimentos antioxidantes na prevenção do envelhecimento cutâneo. **Revista Científica da FHO|UNIARARAS**, [s.l.], 4(1), 1-8, 2016.

SAEEDUDDIN, M.; ABID, M.; JABBAR, S.; WU, T.; HASHIM, M. M.; AWAD, F. N.; ZENG, X. Quality assessment of pear juice under ultrasound and commercial pasteurization processing conditions. **LWT - Food Science and Technology**, [s.l.], 64(1), 452-458, 2015.

SALEHI, B.; ÖZGÜVEN, M. G.; KIRKIN, C.; ÖZÇELIK, B.; BRAGA, M. F. B. M.; CARNEIRO, J. N. P.; BEZERRA, C. F.; SILVA, T. G.; COUTINHO, H. D. M.; AMINA, B.; ARMSTRONG, L.; SELAMOGLU, Z.; SEVINDIK, M.; YOUSAF, Z.; RAD, J. S.; MUDDATHIR, A. M.; DEVKOTA, H. P.; MARTORELL, M.; JUGRAN, A. K.; MARTINS, N. Antioxidant, antimicrobial, and anticancer effects of *Anacardium* plants: An ethnopharmacological perspective. **Frontiers in Endocrinology**, [s.l.], 11, 1-16, 2020.

ISLAM, S. U. ; AHMED, M. B. ; SHEHZAD, A. ; LEE, Y. S. Extrato metabólico de ovos de *Artemia salina* e várias frações em solventes diferentes contêm compostos potentes que diminuem a viabilidade celular das linhas celulares de câncer de cólon e pele e mostram atividade antibacteriana contra *Pseudomonas aeruginosa*, **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, [s.l.], 1-13, 2019.

SANT'ANNA, P. B.; MELO FRANCO, B. D. G.; MAFFEI, D. F. Microbiological safety of ready-to-eat minimally processed vegetables in Brazil: An overview. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, [s.l.], 100(13), 4664-4670, 2020.

SANTANA, P. S.; ALVES, T. C. H. S. Consequências da seletividade alimentar para o estado nutricional na infância: uma revisão narrativa. **Research, Society and Development**, [s.l.], 11(1), 1-10, 2022.

SANTOS, V.; RODRIGUES, S.; FERNANDES, F. Improvements on the stability and vitamin content of acerola juice obtained by ultrasonic processing. **Foods**, [s.l.], 7(5), 1-10, 2018.

SÃO JOSÉ, J. F. B.; ANDRADE, N. J.; RAMOS, A. M.; VANETTI, M. C. D.; STRINGHETA, P. C.; CHAVES, J. B. P. Decontamination by ultrasound application in fresh fruits and vegetables. **Food Control**, [s.l.], 45, 36-50, 2014.

SARKER APU, A.; BHUYAN, S. H.; KHATUN, F.; LIZA, M. S.; MATIN, M.; HOSSAIN, F. Assessment of cytotoxic activity of two medicinal plants using brine shrimp (*Artemia salina*) as an experimental tool. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, [s.l.], 4(3), 1125-1130, 2013.

SARKHEIL, M.; JOHARI, S. A.; AN, H. J.; ASGHARI, S.; PARK, H. S.; SOHN, E. K.; YU, I. J. Acute toxicity, uptake, and elimination of zinc oxide nanoparticles (ZnO NPs) using saltwater microcrustacean, *Artemia franciscana*. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, [s.l.], 57, 181–188, 2018.

SCHLÜTER, O.; FRÖHLING, A. Non-Thermal Processing: Cold Plasma for Bioefficient Food Processing. **Encyclopedia of Food Microbiology: Second Edition**, [s.l.], 2, 948–953, 2014.

**Science Hub Food-Based Dietary Guidelines in Europe.** Available online: <https://ec.europa.eu/jrc/en/health-knowledge-gateway/promotion-prevention/nutrition/food-based-dietary-guidelines>. Acesso em: 20 maio 2022.

SECA, A. I. **A Expansão do Cultivo do Caju e Seus Impactos Ambientais e Econômicos na Guiné-Bissau**. 2020. 113 f. Dissertação (Mestrado em Ciências do Ambiente e Sustentabilidade) – Universidade Federal do Amazonas, Amazonia, 2020.

SELLAMI, I.; CHARMANTIER, G.; NACEUR, H.; KACEM, A.; LORIN-NEBEL, C. Os moregulatory performance and immunolocalization of Na+/K+-ATPase in the branchiopod *Artemia salina* from the Sebkha of Sidi El Hani (Tunisia). **Tissue and Cell**, [s.l.], 63, 1-28, 2020.

SENAI - Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial. Instituto de inovação e tecnologia. **Tecnologias emergentes para preservação dos alimentos**, 2019. Disponível em: <https://www.senairs.org.br/industria-inteligente/artigo-tecnologias-emergentes-para-preservacao-dos-alimentos>. Acesso em: 12 mar. 2020.

SHEIKHI, Z.; MIRMOGHTADAIE, L.; KHANI, M. R.; FARHOODI, M.; BEIKZADEH, S.; ABDOLMALEKI, K.; KAZEMIAN-BAZKIAEE, F.; SHOKRI, B.; SHOJAEE-ALIABADI, S. Physicochemical Characterization of Argon Plasma-Treated Starch Film. **Journal of Agricultural Science and Technology**, [s.l.], 22(4), 999-1008, 2020.

SIDDEEG, A.; ZENG, X. A.; RAHAMAN, A.; MANZOOR, M. F.; AHMED, Z.; AMMAR, A. F. Quality characteristics of the processed dates vinegar under influence of ultrasound and pulsed electric field treatments. **Journal of Food Science and Technology**, [s.l.], 56, 4380–4389, 2019.

SILVA, E. B. M. **BEBIDA MISTA INDUSTRIALIZADA DE FRUTAS E VEGETAIS “DETOX”: CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA, POTENCIAL ANTIOXIDANTE E**

**ESTUDO DA ROTULAGEM GERAL E NUTRICIONAL.** 2019. 92 f. Dissertação (Mestrado em Ciências de Alimentos) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais, 2019.

SILVA, E. V.; LOPES, F. A. M. H. Estudo das características físicas e químicas das folhas do cajueiro (*Anacardium occidentale*) e suas aplicações tecnológicas. In: Congresso Nacional de Pesquisa e Ensino em Ciências, V CONAPESC, 1-14. **Anais...** Campina Grande 2020.

SILVA, L. M. R.; LIMA, A. C. S.; MAIA, A. G.; SOUSA, P. H. M.; GONZAGA, M. L. C.; RAMOS, A. M. Development of mixed nectar of cashew apple, mango and acerola. **International Food Research Journal**, [s.l.], 24(1), 232–237, 2017.

SILVA, M. J. S.; ROCHA, A. P. T.; SANTOS, D. C.; ARAUJO, A. S.; OLIVEIRA, M. N. Caracterização físico-química de blend de abacaxi com acerola obtido pelo método de liofilização. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, Pombal, [s.l.], 11(5), 110-113, 2016.

SILVA, N. O.; LIMA, L. F.; NATEL, A. S.; BIANCHINI, H. C.; SILVA, A. B. Plantas alimentícias não convencionais produzidas no sul de Minas Gerais. **Research, Society and Development**, [s.l.], 11(1), 1-9, 2022.

SILVA, T. S.; SILVA, A. P. S.; DE SOUZA, D. C.; DE DEUS, M. S. M.; BUENO, P. A. A.; MARQUES, M. M. M.; DE ALMEIDA, P. M.; PERON, A. P. **Avaliação tóxica e citogenotóxica de bioestimulantes vegetais em *Allium cepa* L. e *Artemia salina* Leach**. Itajubá, MG: Stellata editora, 2020.

SILVA-LUZ, C. L.; PIRANI, J. R.; MITCHELL, J. D.; DALY, D.; CAPELLI, N. V.; DEMARCO, D.; PELL, S. K.; PLUNKETT, G. M. Phylogeny of *Schinus* L. (Anacardiaceae) with a new infrageneric classification and insights into evolution of spinescence and floral traits. **Molecular Phylogenetics And Evolution, United States**, [s.l.], 133, 302-351, 2019.

SINGLA, M.; SIT, N. Application of ultrasound in combination with other technologies in food processing: A review. **Ultrason Sonochem**, [s.l.], 73, 1-13, 2021.

SNEZHKOVA, A. V., KUDRYAVTSEVA, A. V., KARDYMON, O. L., SAVVATEEVA, M. V., MELNIKOVA, N. V., KRASNOV, G. S., DMITRIEV, A. A. ROS generation and antioxidant defense systems in normal and malignant cells. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, [s.l.], 1-18, 2019.

SRIVASTAV, P. P.; VERMA, D. K.; PATEL, A. R.; AL-HILPHY, A. R. **Emerging thermal and nonthermal technologies in food processing**. 1. ed. New York: Apple Academic Press, 2020.

STAREK, A.; PAWŁAT, J.; CHUDZIK, B.; KWIATKOWSKI, M.; TEREBUN, P.; SAGAN, A.; ANDREJKO, D. Evaluation of selected microbial and physicochemical parameters of fresh tomato juice after cold atmospheric pressure plasma treatment during refrigerated storage. **Scientific Reports**, [s.l.], 9, 1-11, 2019.

SUROWSKY, B.; SCHLÜTER, O.; KNORR, D. Interactions of nonthermal atmospheric pressure plasma with solid and liquid food systems: a review. **Food Engineering Reviews**, [s.l.], 7(2), 82 – 108, 2015.

THIRUMDAS, R.; KADAM, D., ANNAPURE, U. S. Cold Plasma: an Alternative Technology for the Starch Modification. **Food Biophysics**, [s.l.], 12(1), 129–139, 2017.

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

THIRUMDAS, R.; SARANGAPANI, C.; ANNAPURE, U. S. Cold Plasma: a novel nonthermal technology for food processing. **Food Biophysics**, [s.l.], 10(1), 1-11, 2015.

TIMMONS, C.; PAI, K.; JACOB, J.; ZHANG, G.; MA, L. M. Inactivation of *Salmonella enterica*, Shiga toxin-producing *Escherichia coli*, and *Listeria monocytogenes* by a novel surface discharge cold plasma design. **Food Control**, [s.l.], 84, 455-462, 2018.

TIWARI, B. K.; PATRAS, A.; BRUNTON, N.; CULLEN, P. J.; O'DONNEL, C. P. Effect of ultrasound processing on anthocyanins and color of red grape juice. **Ultrasonics Sonochemistry**, [s.l.], 17(3), 598–604, 2010.

TYUTEVERA, E. V.; DOBRYYYAKOVA, K. S.; SCHERMEYER, A.; SHISHOVA, M. F.; PAWLOWSKI, K.; DEMIDCHIK, V.; REUMANN, S.; VOITSEKHOVSKAJA, O. V. The levels of peroxisomal catalase protein and activity modulate the onset of cell death in tobacco BY-2 cells via reactive oxygen species levels and autophagy. **Functional Plant Biology**, [s.l.], 45(2), 247-258, 2017.

ULM, L.; KRIVOHLAVEK, A.; JURASIN, D.; LJUBOJEVIC, M.; SINKO, G.; CRNKOVIC, T.; ZUNTAR, I.; SIKIC, S.; VRCEK, I. V. Response of biochemical biomarkers in the aquatic crustacean *Daphnia magna* exposed to silver nanoparticles. **Environmental Science Pollution Research**, [s.l.], 22, 19990–19999, 2015.

VASILAKI, A.; HATZIKAMARI, M.; STAGKOS-GEORGiadis, A.; GOULA, A. M.; MOURTZINOS, J. A natural approach in food preservation: Propolis extract as sorbate alternative in non-carbonated beverage. **Food Chemistry**, [s.l.], 298, 1-8, 2019.

VENTURINI FILHO, Waldemar Gastoni (Coord). **Bebidas não alcoólicas**: ciência e tecnologia. 2. ed. São Paulo: Blucher, 2018.

VERRUCK, S.; PRUDENCIO, S. E.; DA SILVEIRA, M. S. Compostos Bioativos Com Capacidade Antioxidante e Antimicrobiana em Frutas. **Revista do Congresso Sul Brasileiro de Engenharia de Alimentos**, [s.l.], 4(1), 112, 2018.

VICTAL, J. C.; VALÉRIO, L. B; OSHIRO, M. C.; PINHEIRO, F. Métodos alternativos *in vitro* e *in silico*: métodos auxiliares e substitutivos à experimentação animal.

**Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade**, [s.l.], 7(2), 36-57, 2015.

VIEIRA, A. N. **Alta pressão como técnica de conservação de suco de frutas.** 2020. 48 f. TCC (Bacharel em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2020.

VITORINO, H. A.; MANTOVANELLI, L.; ZANOTTO, F. P.; ESPÓSITO, B. P. Iron metallodrugs: Stability, redox activity and toxicity against *Artemia salina*. **PLoS One**, [s.l.], 10(4), 1–11, 2015.

WANG, J.; WANG, J.; VANGA, S. K.; RAGHAVAN, V. High-intensity ultrasound processing of kiwifruit juice: Effects on the microstructure, pectin, carbohydrates and rheological properties. **Food Chemistry**, [s.l.], 313, 1-38, 2020.

XU, C. C.; WANG, B.; PU, Y. Q.; TAO, J. S.; ZHANG, T. Advances in extraction and analysis of phenolic compounds from plant materials. **Chinese Journal of Natural Medicines**, [s.l.], 15(10), 721-731, 2017.

YILANCIOLLU, K.; COKOL, M.; PASTIRMACI, I.; ERMAN, B.; CETINER, S. Oxidative stress is a mediator for increased lipid accumulation in a newly isolated Dunaliella salina strain. **PLoS One**, [s.l.], 9(3), 1-13, 2014.

YOSHIOKA, Y. L. I. X.; ZHANG, T.; MITANI, T.; YASUDA, M.; NANBA, F.; ASHIDA, H. Black soybean seed coat polyphenols prevent AAPH-induced oxidative DNA-damage in HepG2 cells. **Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition**, [s.l.], 60(2), 108–114, 2017.

ZAPATA, P. J.; ESPLÁ, A. M.; VILAPLANA, A. G.; LAX, D. S.; ARTIAGA, L. N.; BARRACHINA, Á. A. C. Phenolic, volatile, and sensory profiles of beer enriched by macerating quince fruits. **LWT**, [s.l.], 103, 139-146, 2019.

ZHANG, T.; WANG, W.; ZHAO, Y.; BAI, H.; WEN, T.; KANG, S.; SONG, G.; SONG, S.; KOMARNENI, S. Removal of heavy metals and dyes by clay-based adsorbents: From natural clays to 1D and 2D nano-composites. **Chemical Engineering Journal**, [s.l.], 420, 1-108, 2021.

ZHANG, Z. H.; WANG, L. H.; ZENG, X. A.; HAN, Z.; BRENNAN, C. S. Non-thermal technologies and its current and future application in the food industry: A review. **International Journal of Food Science & Technology**, [s.l.], 54(1), 1–13, 2019.