



IMPACTO DA ALTA PRESSÃO E DO ULTRA CISALHAMENTO NA COMPOSIÇÃO DE UM SUCO MISTO DE FRUTAS E VEGETAIS

G. D. Mercali¹, E. Rodrigues¹, C. D. Quiroz-Moreno², V.M. Balasubramaniam^{2,4}, J. Cooperstone^{2,4}

1 – Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul - Avenida Bento Gonçalves - Porto Alegre – RS – Brasil - CEP:91501-970 – e-mail: giovana.mercal.i@ufrgs.br.

2 - Department of Food, Agricultural and Biological Engineering, The Ohio State University, 206 Agricultural Engineering 590 Woody Hayes Drive, Columbus, OH 43210, USA.

3 - Department of Horticulture and Crop Science, The Ohio State University, 2001 Fyffe Court, Columbus, OH 43210, USA.

4 - Department of Food Science and Technology, The Ohio State University, 2015 Fyffe Court, Columbus, OH 43210, USA.

RESUMO – Este estudo investigou o impacto do processamento por alta pressão (HPP) e processamento por ultra cisalhamento (US) no perfil químico de um suco misto de frutas e vegetais utilizando metabolômica não direcionada. A análise de componentes principais revelou agrupamentos distintos com base no tipo de tratamento, indicando que o processamento alterou a composição dos metabólitos do suco em comparação com o suco *in natura*. Alguns compostos fenólicos, como epicatequina, floridzina, procianidina B1, cianidina hexoside, entre outros, sofreram diferentes graus de degradação dependendo do processo aplicado. Além disso, as amostras tratadas apresentaram níveis mais elevados de alguns compostos, como a prolina, sugerindo maior bioacessibilidade e biodisponibilidade. Este trabalho destaca o potencial das tecnologias HPP e US para modificar a composição de alimentos durante o processamento, oferecendo novas oportunidades para a otimização da qualidade dos alimentos.

ABSTRACT – This study investigated the impact of high-pressure processing (HPP) and ultra-shear processing (US) on the chemical profile of a blended fruit and vegetable juice using untargeted metabolomics. Principal component analysis revealed distinct clustering based on treatment type, indicating that processing altered the juice metabolite composition compared to fresh juice. Some



19 A 21 DE MAIO DE 2025 | BENTO GONÇALVES | RS

phenolic compounds, such as epicatechin, phloridzin, procyanidin B1, and cyanidin hexoside, underwent different degrees of degradation depending on the applied process. Additionally, treated samples showed higher levels of certain compounds, such as proline, suggesting increased bioaccessibility and bioavailability. This work highlights the potential of HPP and US technologies to modify food composition during processing, offering new opportunities for optimizing food quality.

PALAVRAS-CHAVE: metabólitos; tecnologias inovadoras; processamento.

KEYWORDS: metabolites; innovative technologies; processing.

1. INTRODUÇÃO

Os setores de pesquisa e desenvolvimento estão sendo cada vez mais desafiados a fornecer alimentos saudáveis, diversificados, culturalmente adequados, seguros, e produzidos através de um sistema sustentável. Novas tecnologias de processamento surgiram para atender a essa demanda e superar as desvantagens das técnicas tradicionais. Essas tecnologias emergentes podem ser divididas em térmicas, como micro-ondas e aquecimento ôhmico, e não térmicas, como campo elétrico pulsado e alta pressão. Sucos de frutas, por exemplo, podem ser processados por tecnologias térmicas, como o aquecimento ôhmico, ou tecnologias não térmicas, como a alta pressão. Cada tecnologia possui mecanismos físicos e químicos próprios para promover a conservação de alimentos e pode induzir diferentes reações na matriz alimentar. Entender essas modificações é fundamental para se estabelecer relações de processo-estrutura-composição e para escolher processos mais vantajosos à produção de sucos com elevada qualidade.

Nesse contexto, a metabolômica surge como uma ferramenta que possibilita uma avaliação dessas relações de forma integrada, sendo possível mapear as diferentes alterações químicas que ocorrem nos alimentos. A aplicação desta técnica permite correlacionar propriedades químicas com segurança alimentar, qualidade, processamento, armazenamento e autenticidade (Ibáñez *et al.*, 2013). Nessa perspectiva, o presente estudo tem como objetivo investigar as alterações químicas induzidas por tecnologias inovadoras de processamento de alimentos, especificamente o processamento por alta pressão (HPP) e a tecnologia de ultra cisalhamento (US), em um suco misto de frutas e vegetais. Esses efeitos serão comparados aos observados em um tratamento controle na mesma temperatura (tratamento térmico brando) e em uma pasteurização térmica convencional. Por meio da



metabolômica não direcionada, este estudo busca elucidar as relações entre processamento, estrutura e composição, explorando suas implicações para a qualidade dos alimentos.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Preparação das amostras

Um suco misto foi produzido com maçãs (58%), folhas de couve roxa (10%), amoras (11%), suco de limão (7%), gengibre (1%) e água (13%), utilizando um extrator de sucos doméstico (Hamilton Beach Juicer Machine, 800W).

2.2 Processamento das amostras

As amostras foram submetidas a cinco três diferentes tratamentos: tratamento térmico brando a 40°C (CT40), alta pressão a 40°C (HPP), ultra cisalhamento a 40°C (US) e ultra cisalhamento a 72°C (UST) e tratamento térmico a 72°C (CT72). Cada tratamento foi realizado com cinco repetições independentes.

HPP foi realizado por 3 com uma pressão de 400 MPa min utilizando um sistema de alta pressão em escala laboratorial (PT-1, Avure Technologies Inc., Kent, WA). Os tratamentos US (tecnologia de ultra cisalhamento) e UST (ultra cisalhamento combinado com calor) foram realizados a 400 MPa em um equipamento laboratorial personalizado de bancada para UST (PBI, Easton, MA), operando a 40 e 72 °C, respectivamente.

Os tratamentos térmicos a 40 e 72 °C foram realizados alinhando-se com as condições térmicas dos tratamentos HPP, US e UST. Esses tratamentos são referidos como tratamentos convencionais, pois não envolvem tecnologias emergentes, baseando-se exclusivamente na transferência de calor para atingir as condições desejadas. Para esses experimentos, amostras de 3 mL foram colocadas em tubos TDT (*thermal death time*) de alumínio com diâmetro interno de 15 mm, espessura de 3 mm e altura de 39 mm (Dhakal *et al.*, 2018). Os tubos foram imersos em um banho-maria mantido a 42 °C ou 74 °C (NESLAB, Thermo Fisher Scientific, Inc., Waltham, MA, EUA).

2.3 Metabolômica não direcionada

A extração de metabólitos polares seguiu o método descrito por Teegarden, Schwartz e Cooperstone, (2019), com pequenas modificações. Amostras de controle de qualidade (QC) foram preparadas através da mistura de alíquotas de todas as amostras individuais. Além disso, foram



19 A 21 DE MAIO DE 2025 | BENTO GONÇALVES | RS

incluídos brancos de solvente e brancos de processo, a fim de identificar potenciais interferências analíticas derivadas de consumíveis laboratoriais.

A aquisição de dados foi realizada usando um sistema de cromatografia líquida de ultra-alta eficiência (UHPLC, Agilent 1290 Infinity II) acoplado a um espectrômetro de massas com analisador de tempo de voo quadrupolo (QTOF-MS, Agilent 6546). A ordem de injeção das amostras foi randomizada e a separação dos analitos foi realizada em uma coluna Waters Acquity UPLC HSS T3 ($2,1 \times 50$ mm, $1,8 \mu\text{m}$). O QTOF-MS operou nos modos de ionização negativa, capturando dados em uma faixa de razão massa-carga (m/z) de 50 a 1700 u. Os dados MS/MS para amostras QC foram adquiridos nos modos de ionização negativa, com energias de colisão de 20 e 40 eV.

Os dados gerados pelo UHPLC-QTOF-MS foram armazenados no formato Agilent (.d) e posteriormente convertidos para (.mzML) usando o software ProteoWizard (Chambers *et al.*, 2012). Os arquivos convertidos foram analisados na plataforma MZMine 3.3.0 (Schmid *et al.*, 2023). A tabela de *features* (.csv) foi exportada para análise estatística no software R (versão 4.4.0). A anotação dos compostos foi feita utilizando GNPS e manualmente, seguindo as diretrizes da *Metabolomics Standards Initiative* (Sumner *et al.*, 2007).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após o pré-processamento e a filtragem dos dados, 2.746 *features* foram retidas para análise. A análise de componentes principais (PCA) foi realizada com todas as amostras, incluindo os QCs, para avaliar a qualidade dos dados (Figura 1A). O agrupamento das amostras dentro de cada grupo de tratamento e a sobreposição dos QCs agrupados sugerem que o espectrômetro de massas teve um bom desempenho e que o processo de limpeza de dados foi eficaz, garantindo medições confiáveis e consistentes para as amostras idênticas.

A Figura 1B apresenta o PCA sem as amostras de QCs. A componente principal 1 (PC1) explica 43,1% da variância total, enquanto a componente principal 2 (PC2) representa 9%. O gráfico de scores mostra uma separação clara ao longo do PC1 entre o suco *in natura* e as amostras tratadas, independentemente da tecnologia aplicada. Isso indica diferenças na composição entre amostras não tratadas e tratadas. Ao longo do PC2, observa-se uma separação distinta entre US e UST (posicionados no domínio positivo) e CT40, CT72 e HPP, que estão no domínio negativo do PC.

Um mapa de calor mostrando *features* significativamente diferentes com valor de p corrigido pelo $\text{FDR} \leq 0,05$ é apresentado na Figura 2, agrupando tanto as amostras (linhas) quanto as *features* (colunas). Nessa figura, observam-se dois clusters principais de tratamentos. O primeiro cluster inclui o suco *in natura*, e o segundo cluster é formado por todas as amostras tratadas. Essa separação sugere



19 A 21 DE MAIO DE 2025 | BENTO GONÇALVES | RS

que essas amostras *in natura* possuem um perfil de metabólitos são distintos das amostras tratadas. Alguma *features* no lado esquerdo do mapa de calor possuem abundância relativa mais alta na amostra *in natura* do que nas demais, indicando possivelmente um processo de degradação quando o suco foi submetido ao processamento.

Figura 1 - Análise de componentes principais (PCA) da tabela de *features* no MS1: (A) gráfico de scores incluindo as amostras de QCs; e (B) gráfico de scores sem as amostras de QCs.

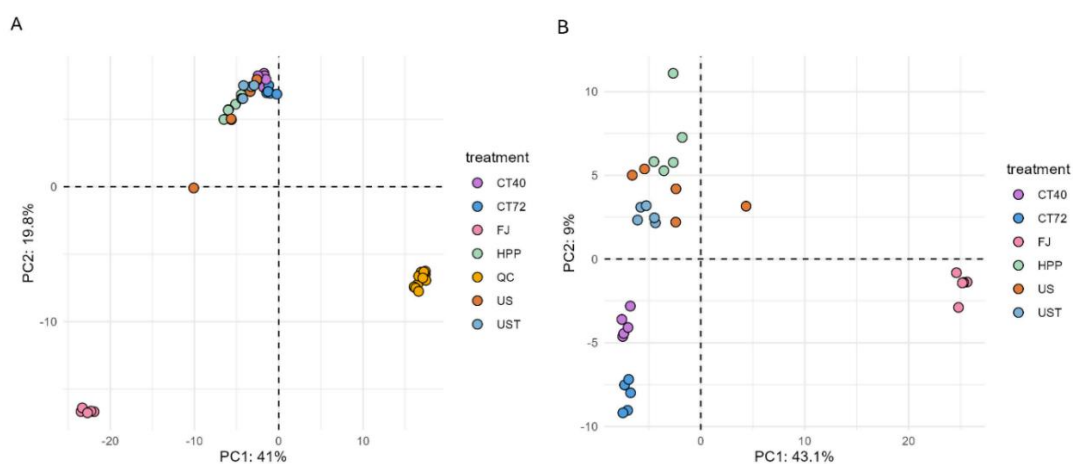
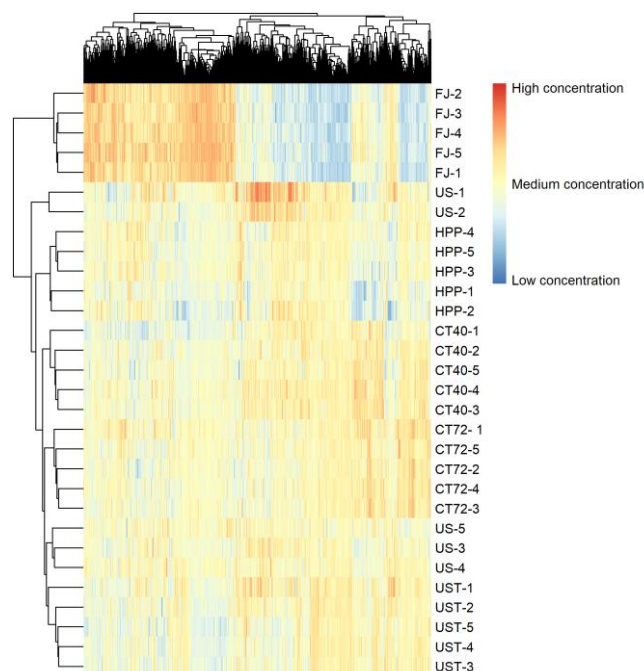
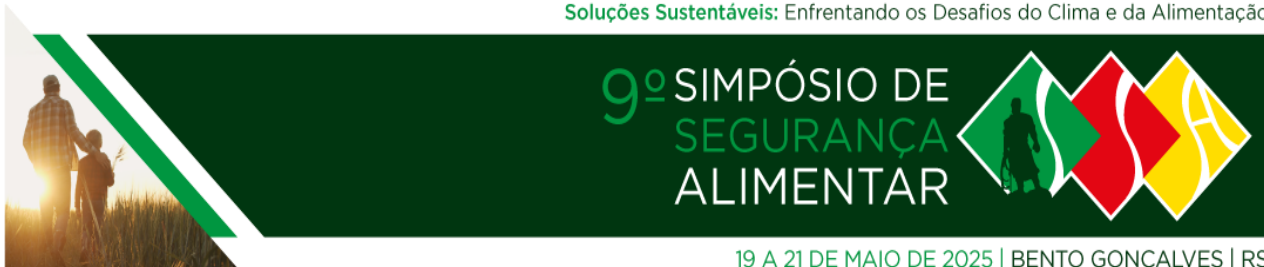


Figura 2. Mapa de calor das *features* significativamente diferentes com valor de p corrigido pelo $FDR \leq 0,05$ detectadas por metabolômica não direcionada utilizando LC-MS. O agrupamento hierárquico utilizando distâncias euclidianas e o método de ligação de Ward foi aplicado horizontalmente para categorizar as amostras e verticalmente para agrupar as *features*.





19 A 21 DE MAIO DE 2025 | BENTO GONÇALVES | RS

Quarenta e oito (48) dessas *features* foram anotadas como compostos fenólicos, ácidos orgânicos, açúcares e aminoácidos. Verificou-se que alguns compostos sofreram diferentes graus de degradação dependendo do processo aplicado. Compostos como epicatequina, floridzina, ácido 3-cafeoilquínico, procianidina B1, procianidina B2, cianidina hexoside, cianidina rutinoside e N-cafeoilputrescina, apresentaram níveis de degradação em todos os tratamentos aplicados. Em contraste, *features* no lado direito aparecem com menor abundância relativa no suco *in natura* do que nas amostras tratadas, provavelmente devido a um processo de liberação durante o tratamento, como a prolina, herbacetina e diosmina.

3. CONCLUSÕES

Este estudo avaliou o impacto do processamento por alta pressão e ultra cisalhamento nas alterações químicas de um suco misto, comparado a um tratamento térmico brando, usando metabolômica não direcionada. As tecnologias aplicadas modificaram significativamente o perfil metabólico, induzindo degradação de alguns compostos e liberação de outros (aumentando sua bioacessibilidade). Os resultados destacam a importância de uma abordagem abrangente para compreender as mudanças químicas durante o processamento de alimentos.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CHAMBERS, M. C. *et al.* **A cross-platform toolkit for mass spectrometry and proteomics**. [S. l.: s. n.], 2012.
- DHAKAL, S. *et al.* Kinetic modeling of ascorbic acid degradation of pineapple juice subjected to combined pressure-thermal treatment. **Journal of Food Engineering**, [s. l.], v. 224, p. 62–70, 2018. Disponível em: Acesso em: 23 maio 2024.
- IBÁÑEZ, C. *et al.* Novel MS-based approaches and applications in food metabolomics. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, [s. l.], v. 52, p. 100–111, 2013. Disponível em: Acesso em: 23 maio 2024.
- SCHMID, R. *et al.* **Integrative analysis of multimodal mass spectrometry data in MZmine 3**. [S. l.]: Nature Research, 2023.
- SUMNER, L. W. *et al.* Proposed minimum reporting standards for chemical analysis: Chemical Analysis Working Group (CAWG) Metabolomics Standards Initiative (MSI). **Metabolomics**, [s. l.], v. 3, n. 3, p. 211–221, 2007.
- TEEGARDEN, M. D.; SCHWARTZ, S. J.; COOPERSTONE, J. L. Profiling the impact of thermal processing on black raspberry phytochemicals using untargeted metabolomics. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 274, p. 782–788, 2019. Disponível em: Acesso em: 23 maio 2024.