



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

**GLAUBER BATISTA MOREIRA SANTOS**

**ABORDAGEM METABOLÔMICA E QUIMIOMÉTRICA PARA AVALIAÇÃO DOS**  
**COMPONENTES VOLÁTEIS E NÃO VOLÁTEIS DA PITAYA [*HYLOCEREUS***  
***POLYRHIZUS* (WEBBER) BRITTON & ROSE]**

**FORTALEZA**

**2019**

GLAUBER BATISTA MOREIRA SANTOS

ABORDAGEM METABOLÔMICA E QUIMIOMÉTRICA PARA AVALIAÇÃO DOS  
COMPONENTES VOLÁTEIS E NÃO VOLÁTEIS DA PITAYA [*HYLOCEREUS*  
*POLYRHIZUS* (WEBBER) BRITTON & ROSE]

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, do Departamento de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará como requisito parcial para a obtenção do Título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Área de concentração: Processamento de Alimentos de Origem Vegetal.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dra. Dorasílvia Ferreira Pontes.

Coorientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dra. Ana Paula Dionísio.

FORTALEZA

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca Universitária

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

---

- S235a Santos, Glauber Batista Moreira.  
Abordagem metabolômica e quimiométrica para avaliação dos componentes voláteis e não voláteis da pitaya [*hylocereus polyrhizus* (webber) britton & rose] / Glauber Batista Moreira Santos. – 2019.  
76 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Fortaleza, 2019.  
Orientação: Profa. Dra. Dorasilvia Ferreira Pontes.  
Coorientação: Profa. Dra. Ana Paula Dionisio.
1. *Hylocereus polyrhizus*. 2. Metabolômica. 3. Quimiometria. 4. Polifenoloxidase. 5. Peroxidase. I. Título.  
CDD 664
-

GLAUBER BATISTA MOREIRA SANTOS

ABORDAGEM METABOLÔMICA E QUIMIOMÉTRICA PARA AVALIAÇÃO DOS  
COMPONENTES VOLÁTEIS E NÃO VOLÁTEIS DA PITAYA [*HYLOCEREUS*  
*POLYRHIZUS* (WEBBER) BRITTON & ROSE]

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, do Departamento de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará como requisito parcial para a obtenção do Título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Área de concentração: Processamento de Alimentos de Origem Vegetal.

Aprovada em: 19/06/2019

BANCA EXAMINADORA

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Dorasílvia Ferreira Pontes (Orientadora)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Ana Paula Dionisio (Coorientadora)  
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA)

---

Dr. Fernando Antonio Pinto de Abreu  
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA)

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup> Maria Nilka de Oliveira  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Dr<sup>ª</sup> Maria de Fátima Gomes da Silva

A Deus.

Aos meus pais, parentes e  
amigos.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus primeiramente por ter me proporcionado a realização de um sonho. Aos meus pais, Antonio Cleber Moreira Santos e Valdênia Lúcia Batista Dos Santos, por serem meus referenciais e o presente de Deus para minha vida. A minha “vozinha” Maria Irismar *in memoriam* você foi essencial em minha vida!

A minha Orientadora Prof Dra. Dorasilvia Ferreira Pontes por toda ajuda no encaminhamento de toda a dissertação. À minha coorientadora, Dr. Ana Paula Dionísio, por toda paciência, ensinamentos proporcionados, pelo carinho e pela alegria de sempre. Agradeço a vocês, mas agradeço também a Deus por ter me guiado por esse caminho no qual tive vocês para me conduzirem e me auxiliarem.

Ao Dr. Guilherme Zocollo e aos seus alunos de pós Doutorado Gisele Silvestre e Jhonyson Arruda por todo empenho e ensinamentos. Ao Dr. Fernando Abreu por toda a compreensão, ensinamentos e companheirismo. Também a Dra. Maria Nilka, Dra. Maria de Fátima por participarem da banca de defesa de dissertação. Ao Dr. Paulo Henrique por todos os ensinamentos.

Aos analistas da Embrapa Agroindústria Tropical, em especial à Marcia Régia Souza da Oliveira, Cláudia Oliveira Pinto, Arthur Cláudio Rodrigues de Souza, Ídila Maria da Silva Araújo, Hilton Magalhães por me auxiliarem em todos os processos e análises realizadas, pelas conversas e brincadeiras, vocês foram essenciais.

A todos os bolsistas dos Laboratórios de Processos Agroindustriais, de Pós Colheita, de Análise de Alimentos, Química de Produtos Naturais da Embrapa e Tecnologia de Cereais da Universidade Federal do Ceará.

Aos meus amigos que estão comigo desde a graduação e da pós-graduação. Muito obrigado pelas conversas e ensinamentos. Foi especial cada momento! Aos meus irmãos em Cristo: os adolescentes (@Adolestc) e os jovens (“Jovens TC - Gileade”) por todo o companheirismo e aos meus líderes espirituais também.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará (UFC), por todo ensinamento repassado.

A Embrapa Agroindústria Tropical, por todo o apoio dado a pesquisa. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001. A todos que de alguma forma contribuíram para a realização desta pesquisa, meus singelos agradecimentos.

*“Porque a nossa leve e momentânea tribulação produz para nós um peso eterno de glória mui excelente; não atentando nós nas coisas que se vêem, mas nas que se não vêem; Porque as que se vêem são temporais, e as que se não vêem são eternas.”*  
2 Coríntios 4:17.18

## RESUMO

A pitaya vermelha (*Hylocereus polyrhizus*) também conhecida como fruta do dragão tem sua origem relatada no continente americano e tem chamado atenção devido a sua coloração e seus benefícios já estudados. Os efeitos do processamento na composição química, físico-química, enzimática, metabolômica e quimiométrico da *Hylocereus polyrhizus* foram estudados nessa pesquisa. Foram avaliados os seguintes tratamentos na pitaya: Tratamento A (sem adição de ácido ascórbico na polpa), Tratamento B (processamento de frutos inteiros e adição de ácido ascórbico na polpa) e Tratamento C (processamento de frutos inteiros e sem adição de ácido ascórbico). Nos estudos das análises envolvendo atividades enzimáticas (polifenoloxidase e peroxidase), caracterizações químicas e físico-químicas foram utilizados os modelos de análise multivariada de dados, como por exemplo, a análise de compostos principais (PCA), análises de mínimos quadrados parciais (PLS-DA), Análise discriminante de mínimos quadrados parciais ortogonais (OPLS-DA), variáveis de importância em projeção (VIP) e mapas de calor (HEATMAP) para melhor compreender e determinar a correlação entre o perfil químico e os tratamentos. No geral, os dados apresentaram baixo teor proteico, baixo teor de lipídeos, sendo detectados apenas nas sementes, com maior presença de carboidratos em todas as frações dos processamentos. Os ácidos linoleico, oleico e palmítico foram os mais presentes nas sementes em ambos os processamentos. O tratamento B apresentou baixa atividade de polifenoloxidase e peroxidase, sem alterações químicas e físico-químicas significativas na maioria dos parâmetros avaliados, e um processo com altos rendimentos do que foi comparado com o tratamento A e o tratamento C. Para a análise metabolômica, cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (CG-MS) e a cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada a espectrometria de massas (UPLC-QTOF-MS<sup>E</sup>) mostraram serem métodos eficazes para a determinação simultânea de 80 e 35 metabólitos, respectivamente, voláteis e não voláteis da pitaya. Toda a análise quimiométrica distinguiu eficientemente os tratamentos aplicados, e mostra que o tratamento B apresenta um perfil químico significativo, devido à preservação ou formação de novos compostos.

**Palavras-chave:** *Hylocereus polyrhizus*. Metabolômica. Quimiometria. Polifenoloxidase. Peroxidase.



## ABSTRACT

The red pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) also known as dragon fruit has its origin reported in the American continent and has attracted attention due to its coloration and benefits already studied. The effects of processing on the chemical, physicochemical, enzymatic, metabolomic and chemometric composition of *Hylocereus polyrhizus* were studied in this research. The following naitaya treatments were evaluated: Treatment A (without addition of ascorbic acid in the pulp), Treatment B (processing of whole fruits and addition of ascorbic acid in the pulp) and Treatment C (processing of whole fruits and without addition of ascorbic acid). In the studies of the analyzes involving enzymatic activities (polyphenoloxidase and peroxidase), chemical and physico-chemical characterization, the multivariate data analysis models were used, such as the main compound analysis (PCA), partial least squares (PLS-DA), Orthogonal Partial Least Squares discriminant analysis (OPLS-DA), projection importance variables (VIP) and heat maps (HEATMAP) to better understand and determine the correlation between chemical profile and treatments. In general, the data presented low protein content, low lipid content, being detected only in the seeds, with a higher carbohydrate presence in all fractions of the processes. Linoleic, oleic and palmitic acids were the most present in the seeds in both processes. Treatment B showed low polyphenoloxidase and peroxidase activity, with no significant chemical and physicochemical changes in most of the evaluated parameters, and a process with high yields than was compared with treatment A and treatment C. For the metabolomic analysis, chromatography gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS) and ultra-high performance liquid chromatography coupled to mass spectrometry (UPLC-QTOF-MSE) were effective methods for the simultaneous determination of 80 and 35 metabolites, respectively volatile and non-volatile of the pitaya. All the chemometric analysis efficiently distinguished the applied treatments, and shows that treatment B presents a significant chemical profile due to the preservation or formation of new compounds.

**Keywords:** *Hylocereus polyrhizus*. Metabolomic. Chemometrics. Poliphenoloxidase. Peroxidase.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Pitaya vermelha ( <i>Hylocereus polyrhzius</i> ).....	18
Figura 2	– Partes da Pitaya.....	19
Figura 3	– Estrutura química da betalaína.....	20
Figura 4	– Reação de escurecimento enzimático: (A) Ácido clorogênico; (B) <i>O</i> -Quinona; (C) Acido Quínico e Acido cafeíco; (D) <i>O</i> -Quinona.....	21
Figura 5	– Moléculas de (A) betacianinas (vermelhas), (B) betaxantinas (amarelas) e do seu precursor comum, o (C) ácido betalâmico. Além disso, estruturas da (D) Betanina, (E) Filocactina, (F) Indicaxantina, (G) Isoramnetina, (H) Betanidina, (I) Apiosil, (J) Malonil, (L) Furosil e (M) Sinapoil.....	26
Figura 6	– Principais precursores e algumas vias metabólicas de formação dos compostos voláteis.....	28
Figura 7	– (AI) - Fluxograma de obtenção dos diferentes frações de pitaya do Tratamento A: polpa, semente e casca; (AII) – Imagem da pitaya in natura, polpa, casca e semente do tratamento A. (BI) - Fluxograma de obtenção dos diferentes produtos de pitaya do Tratamento B: polpa, semente e casca e polpa do Tratamento C; (BII) - Imagem da pitaya in natura, polpa, casca e semente do tratamento B e C.....	30
Figura 8	– Esquema da análise de perfil químico por <i>CG-MS</i> e <i>UPLC-QTOF-MS<sup>E</sup></i> ...	38
Figura 9	– Polpas mantidas em refrigeração (4 °C) para a análise de cor - (A) Polpa de pitaya vermelha do tratamento A, (B) Polpa de pitaya vermelha do tratamento B e (C) Polpa de pitaya vermelha do tratamento C.....	40
Figura 10	– Cromatograma padrão de ácidos graxos saturados e insaturados em óleo de semente de pitaya.....	44
Figura 11	– (A) Gráficos de quimiometria da análise do composto principal ( <i>PCA</i> - 3D), (B) mínimos quadrados parciais ( <i>PLSDA</i> - Scores), o (C) gráfico de variáveis de importância na projeção ( <i>VIP</i> - Scores) e (D) cromatograma de os processos com os compostos <i>VIP</i> identificados.....	50
Figura 12	– <i>Heatmap</i> - Análise multivariada dos compostos voláteis do controle, processamento A e B da pitaya vermelha. A cor vermelha mais profunda	

	representa a intensidade relativa mais alta, a cor azul mais profunda a intensidade relativa mais baixa e a intensidade intermediária é uma cor branca.....	52
Figura 13	– Cromatogramas correspondentes aos tratamentos: (polpa (TA), casca (TAC), semente (TAS), polpa (TB), casca (TBC), semente (TBS)) e polpa controle (TC)).....	54
Figura 14	– Análise compostos principais dos tratamentos com <i>Hylocereus polyrhizus</i> : A - A x B (TA x TB, x TAC x TBC x TAS x TBS); B- (TA x TB x TC); C - (TAC x TBC); TBS).....	64
Figura 15	– Gráficos das análises de OPLS - Da e SPLIT. A - TA x TB; B - TB x TC; C - TA x TC; D - TAC x TBC e E - TAS x TBS.....	67

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	– Técnicas analíticas, especificidades e aplicações.....	24
Tabela 2	– Efeito do tratamento na atividade relativa da polifenoloxidase (%) e da peroxidase (%) e os parâmetros de cor da pitaya ( <i>Hylocereus polyrhizus</i> Webber Britton & Rose).....	39
Tabela 3	– Efeito do processamento nas características químicas e físico-químicas da polpa, casca e semente de pitaya (Tratamento A e Tratamento B).....	42
Tabela 4	– Identificação de compostos voláteis de pitaya ( <i>Hylocereus polyrhizus</i> Webb. Britton & Rose) obtidos por GC-MS.....	45
Tabela 5	– Identificação de compostos voláteis de pitaya ( <i>Hylocereus polyrhizus</i> Webb. Britton & Rose) obtidos por UPLC-QTOF-MS <sup>E</sup> em modo positivo.....	55

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	15
2	OBJETIVOS.....	17
2.1	Objetivo Geral.....	17
2.2	Objetivos Específicos.....	17
3	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	18
3.1	Pitaya Vermelha [ <i>Hylocereus Polyrhizus</i> (Webber) Britton & Rose].....	18
3.2	ESCURECIMENTO ENZIMÁTICO.....	20
3.3	METABOLÔMICA.....	22
3.3.1	<i>Conceitos Gerais</i> .....	22
3.3.2	<i>Compostos Bioativos na Pitaya Vermelha</i> .....	25
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	29
4.1	Matéria Prima.....	29
4.2	Despolpamento da Pitaya.....	29
4.3	Análises Químicas, Físico Químicas e Enzimáticas.....	31
4.3.1	<i>Potencial Hidrogeniônico (pH)</i> .....	31
4.3.2	<i>Acidez Titulável</i> .....	31
4.3.3	<i>Sólidos Solúveis</i> .....	31
4.3.4	<i>Umidade</i> .....	31
4.3.5	<i>Cinzas</i> .....	31
4.3.6	<i>Proteínas</i> .....	32
4.3.7	<i>Lipídeos</i> .....	32
4.3.8	<i>Carboidratos</i> .....	32
4.3.9	<i>Valor Calórico</i> .....	32
4.3.10	<i>Fibras</i> .....	32
4.3.11	<i>Metodologia para Análise dos Ácidos Graxos de Pitaya</i> .....	33
4.3.12	<i>Atividade Polifenoloxidase (PPO), Peroxidase (POD) e Análise de Cor da Polpa de Pitaya</i> .....	33
4.4	Estudo do Perfil Químico.....	34
4.4.1	<i>Análise Metabolômica dos Compostos Voláteis (CG-MS)</i> .....	34
4.4.2	<i>Análise Metabolômica dos Compostos Não Voláteis (UPLC-QTOF-MS<sup>E</sup>)</i> .....	35
4.4.3	<i>Análise do Perfil Químico por UPLC-QTOF-MS<sup>E</sup></i> .....	36
4.4.4	<i>Estratégia de Desreplcação/Identificação</i> .....	36

4.4.5	<i>Análise de Dados Quimiométricos e Identificação De Metabólitos</i> .....	37
4.5	<i>Análises Estatísticas</i> .....	38
5	<b>RESULTADO E DISCUSSÕES</b> .....	39
5.1	<b>Rendimentos do Despulpamento</b> .....	39
5.2	<b>Análise de Cor e Atividade Enzimática da Polpa de Pitaya</b> .....	39
5.3	<b>Caracterização Físico Química da Pitaya</b> .....	41
5.4	<b>Análise de Identificação Usando CG-MS</b> .....	44
5.5	<b>Análise Multivariada CG - MS</b> .....	50
5.6	<b>Análise de Identificação Usando UPLC-QTOF-MS<sup>E</sup></b> .....	53
5.7	<b>Análise Multivariada UPLC-QTOF-MS<sup>E</sup></b> .....	64
5.8	<b>Potenciais Marcadores Químicos</b> .....	65
6	<b>CONCLUSÕES</b> .....	69
6.1	<b>Perspectivas Futuras</b> .....	69
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	70

## 1 INTRODUÇÃO

Pitahaia, pitaya ou fruta do dragão (*Hylocereus spp.*) são nomes gerais para um grupo diversificado de gêneros da família Cactaceae. As três espécies mais comuns de pitaya comercializadas são a casca vermelha com a polpa branca (*Hylocereus undatus* Haw. Britton & Rose), pitaya amarela com polpa branca (*Selenicereus megalanthus*) e (pitaya vermelha de polpa vermelha púrpura brilhante (*Hylocereus polyrhizus* Webb. Britton & Rose) (NUNES *et al.*, 2014).

Pitaya são nativas da América Central e do Sul (ORTIZ-HERNÁNDEZ; CARILLO-SALAZAR, 2012) e são comercialmente cultivadas em uma ampla gama de países, incluindo México, Guatemala, Estados Unidos e Brasil. O cultivo de pitaya foi recentemente estimulado na região semi-árida do Brasil, como o estado do Ceará. Uma vantagem particular do cultivo de pitayas como uma cultura em regiões secas é o seu potencial para contribuir para o desenvolvimento agrícola nessas regiões em virtude de sua maior tolerância ao estresse hídrico de longo prazo e solos pobres (HUA *et al.*, 2018).

Dentre os compostos de destaque para a pitaya, tem-se os antioxidantes (como betalaínas, responsáveis pela sua coloração atrativa) e os oligossacarídeos prebióticos. Betalaínas, devido à sua relativa escassez na natureza, não foram muito exploradas como compostos bioativos, mas alguns estudos têm indicado seu potencial como pigmentos antioxidantes, estando correlacionadas com as betacianinas e betaxantinas, que atribuíram a atividade antioxidante às betalaínas. Além do mais, esses pigmentos podem agregar valor aos produtos alimentares devido ao apelo comercial para um consumidor cada vez mais preocupado a saúde (ESQUIVEL, 2007; KHALILI *et al.*, 2014; THIRUGNANASAMBANDHAM; SIVAKUMAR, 2017).

Nos últimos anos, a pitaya ganhou popularidade, pelo menos em parte, como resultado da aparência atraente da polpa e devido aos benefícios potenciais para a saúde dos altos níveis de betalainas que são característicos das variedades de pitaya vermelho ou roxo (STINTZING *et al.*, 2007; WYBRANIEC; MIZRAHI, 2002). A fonte de betalaína mais comum é a beterraba vermelha (*Beta vulgaris* L. *ssp.* *Vulgaris*), apesar de seus altos teores de nitrato (SANTAMARIA, 2006) e seu odor terroso causado por derivados de geosmina e pirazina (LU *et al.*, 2003). Desta forma, a pitaya surge como uma alternativa uma vez que foi relatado na literatura o processamento de pitaya em sucos de frutas e produtos relacionados (HERBACH *et al.*, 2006).

No entanto, o material mucilaginoso presente na pitaya desfavorece seu processamento para obtenção de polpa, resultando em baixos rendimentos durante os procedimentos de extração da polpa (ESQUIVEL *et al.*, 2007, STINTZING; CARLE, 2007). A fim de melhorar a extração da polpa, toda a fruta pode ser processada. Se por um lado há um aumento no rendimento, por outro há um aumento nos níveis de enzimas oxidativas (polifenoloxidasas - PPO e peroxidases - POD), causando mudanças na cor e nos constituintes voláteis da pitaya. O uso de acidulantes como ácido ascórbico no processo pode ser necessário para estabilizar sua cor e, conseqüentemente, devido a sua atividade antioxidante, proteger os betalains e preservar os compostos voláteis presentes na pitaya (HERBACH *et al.*, 2006; LEONG *et al.*, 2018). Mas a escassez de estudos relacionados a oxidação enzimática em pitaya vermelha mostra a importância do presente estudo.

Na literatura tem sido observado que em base seca a pitaya possui elevado teor de carboidratos (SATO *et al.*, 2014; ABREU *et al.*, 2012). Em decorrência disso, os compostos glicosilados sofrem várias modificações estruturais relacionadas a instabilidade química diante dos processos de degradação (KUMORKIEWICZ; WYBRANIEC, 2017). Além disso, pode contribuir para a formação de compostos voláteis que são responsáveis pelos aromas de frutos. Segundo Schwab *et al.* (2008) mostram que um dos principais precursores de aldeídos, cetonas e ésteres presentes em frutos é decorrente da via dos carboidratos, ácidos graxos e aminoácidos.

Em relação a atividade biológica tem sido relatado na literatura a associação da polpa/semente em camundongos diabéticos a redução da glicemia, redução da peroxidase lipídica, diminuição do LDL e aumento do HDL, inibição da alfa amilase e sobre o potencial terapêutico na dislipidemia, contribuindo para a redução do risco de doenças cardiovasculares, com possibilidades de prevenir a instalação do processo aterosclerótico. Além disso, a polpa, casca e a semente separadamente apresentaram atividade ansiolítica em peixes modelo zebrafish, não apresentou toxicidade em células vero e nem no modelo zebrafish (LIRA, 2019; HOLANDA, 2019)

O principal objetivo deste estudo foi examinar o impacto do processamento da polpa na composição química, físico-química, enzimática, metabolômica (*CG-MS e UPLC-QTOF-MS<sup>E</sup>*) e quimiométrica (*PCA, PLS-DA, OPLS-DA, VIP e HEATMAP*) da polpa de pitaya (*Hylocereus polyrhizus* Webb. Britton & Rose) sob seus constituintes voláteis e não voláteis. O trabalho atual é de grande importância industrial para reduzir o custo do processamento de pitaya com sua preservação ou melhoria do perfil químico.



## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

Avaliar os efeitos dos diferentes processamentos da pitaya sob seus componentes voláteis e não voláteis através das análises metabolômicas e quimiométricas.

### 2.2 Objetivos Específicos

Análise dos rendimentos nos processos de despulpamento da pitaya vermelha;

Análise da atividade enzimática das enzimas polifenoloxidase e peroxidase da polpa sem adição de ácido ascórbico (tratamento A), polpa com adição de ácido ascórbico (Tratamento B) e polpa controle (tratamento C)

Análise da composição química, físico-química dos processamentos A (polpa, casca e semente) e B (polpa, casca e semente);

Análise do perfil metabolômico dos componentes bioativos da pitaya na polpa, casca e semente por meio do *CG-MS* e *UPLC-QTOF-MS<sup>E</sup>*;

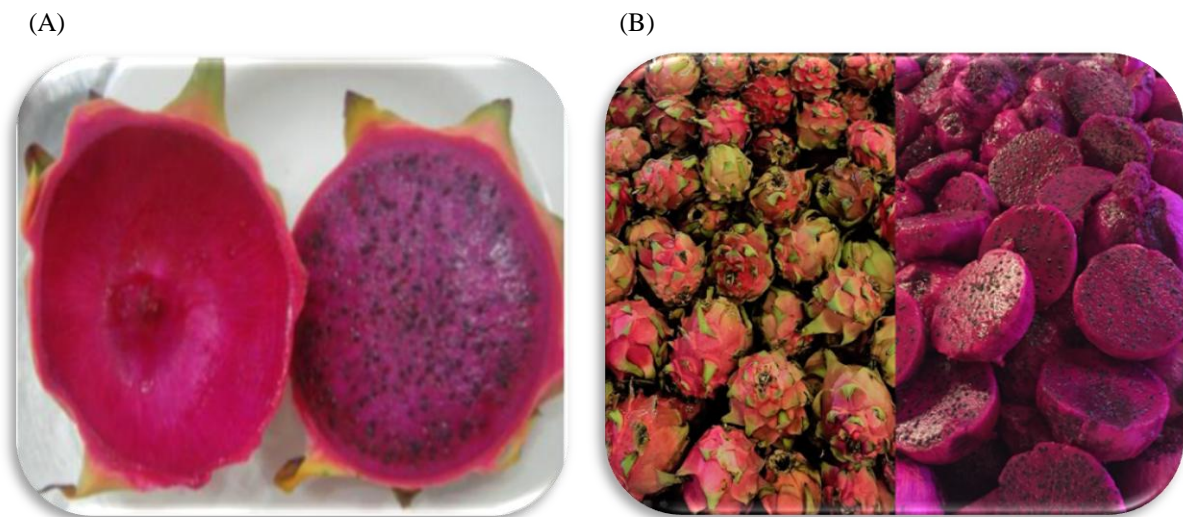
Análise quimiométrica dos dados químicos utilizando a análise de compostos principais (*PCA*), análises de mínimos quadrados parciais (*PLS-DA*), análise discriminante de mínimos quadrados parciais ortogonais (*OPLS-DA*), variáveis de importância em projeção (*VIP*) e mapas de calor (*HEATMAP*);

### 3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

#### 3.1 PITAYA VERMELHA [*HYLOCEREUS POLYRHIZUS* (WEBBER) BRITTON & ROSE]

A Pitaya Vermelha [*Hylocereus polyrhizus* (Webber) Britton & Rose] tem sua origem no continente americano, sendo uma planta com casca e polpa vermelha/arrocheada. A palavra “pitaya vermelha” é um termo haitiano que significa “fruto escamoso”. A fruta é conhecida como fruta do Dragão, pitaya e pitahaya (ECHEVERRI, 1990; ORTIZ-HERNÁNDEZ *et al.*, 1999; MIZRAHI, 2014; SARMENTO, 2017).

Figura 1. Pitaya vermelha (*Hylocereus polyrhizus*)

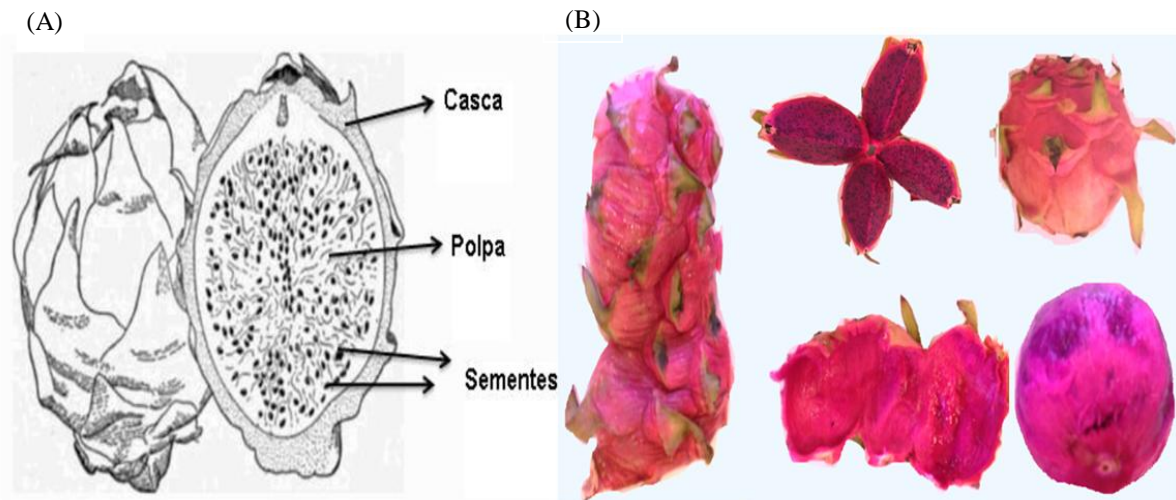


Fonte: Ariffin *et al.* (2009); Autor (2018).

A Pitaya vermelha possui a classificação taxonômica de: Super-reino: Eucarionte; Reino: Plantae; Sub-reino: Embriófita; Filo: Tracófito; Superclasse: Angiosperma; Classe: Magnoliopsida; Ordem: Caryophyllales; Família: Cactaceae; Gênero: *Hylocereus*; Espécie: *polyrhizus* (BRITTON; ROSE, 1963; SOLANO *et al.*, 2005).

É uma planta que apresenta espinhos (2 mm - 4 mm) e seu caule é adaptado a regiões mais secas (cladódio). O fruto é dividido em casca e polpa carnuda com sementes. Em relação às sementes, são circulares e com grande capacidade de germinação estão espalhadas sobre todo o vegetal. Além disso, as sementes contêm ácido graxo linoléico e linolênico (CANTO, 1993; DONADIO, 2009; ARIFFIN *et al.*, 2009; CORDEIRO *et al.*, 2015).

Figura 2. Partes da Pitaya.



Fonte: (A) Chestofbooks (2011); (B) Autor (2018).

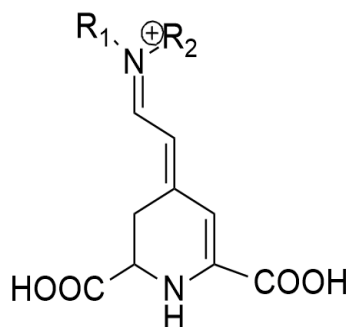
As raízes são fibrosas e fixam-se em suportes como, por exemplo, em solos pedregosos, arenosos e rochosos. Possui um elevado potencial em relação à agronomia visto que, se adapta a solos com pouca disponibilidade de água e com poucos nutrientes (JUNQUEIRA *et al.*, 2010).

Segundo Sarmiento (2017) durante o período de 2007 a 2012 houve aumento de mais de 250% no volume de comercialização de pitaya na Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais de São Paulo (CEAGESP). No ano de 2013, foram comercializadas mais de 319 toneladas de pitaya, originárias de cinco estados brasileiros: São Paulo, Minas Gerais, Ceará, Paraná e Goiás, com destaque para o Estado de São Paulo, responsável por mais de 92% da quantidade comercializada nas Centrais Estaduais de abastecimento (CEASAS) (mais de 270 toneladas), seguido por Minas Gerais, com pouco mais de 5,62% (16.380 kg), e pelo Ceará (1,16% do total comercializado, equivalente a 3.399 kg).

A Pitaya Vermelha é um fruto muito apreciado pelos consumidores, sendo formoso e atraente devido ao seu formato e coloração. Foi observado que a Pitaya pode exibir maiores concentrações de betalaínas (Figura 3) do que outros frutos de cactos, sendo essa uma das quatro classes de pigmentos vegetais utilizados comercialmente como corantes naturais em alimentos, essa classe é influenciada pelo aumento de pH, temperatura e luz que atuam acelerando a degradação de betacianinas. Conseqüentemente, a degradação destes componentes, além de impactarem na coloração do produto, também reduz a sua ação

antioxidante, comprometendo a qualidade do produto processado. Além do mais, as betalaínas, são estáveis dentro de uma grande faixa de pH (3-7), o que favorece a aplicação em alimentos processados industrialmente (BARQUERO; MADRIGAL, 2010; MIZRAHI, 2014).

Figura 3. Estrutura química da betalaína.



Fonte: Autor (2018).

### 3.2 ESCURECIMENTO ENZIMÁTICO

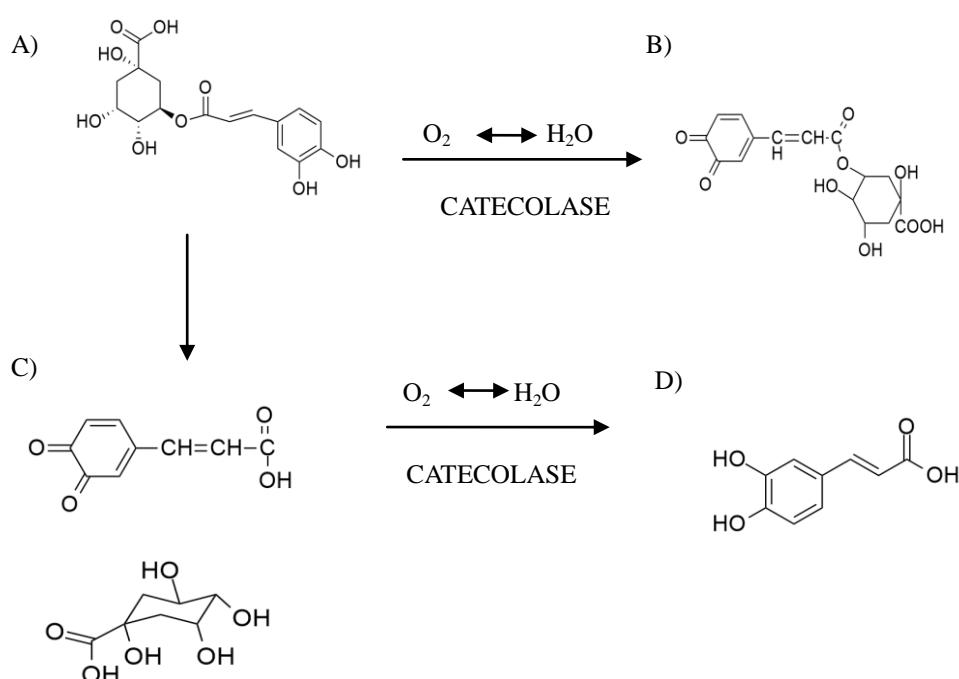
A aplicação dos mais diversos processamentos tecnológicos, entre eles, amassamento, trituração ou de quaisquer danos físicos, causados durante a colheita ou pós-colheita, em frutos ou vegetais podem desencadear mudanças na coloração rapidamente. Embora, essas mudanças de coloração possam também ocorrer em vegetais sem danos físicos, por exemplo, quando ocorrem situações de atmosfera controlada, um dos principais problemas enfrentados pela indústria de alimentos. A Atividade dessas enzimas pode ter variação dependendo da variedade, estágio de maturação e das condições de cultivo. A enzima, o substrato e o oxigênio são os três principais fatores para determinação da atividade enzimática (ARAÚJO, 2011).

Os compostos fenólicos presentes no retículo endoplasmático são sintetizados, e depois de formados esses compostos são glicosilados e depois transportados ao vacúolo pelas membranas do retículo endoplasmático. Outras quantidades menores são transportadas no citoplasma e na mitocôndria e são associadas ao metabolismo (TOIVONEN *et al.*, 2008)

A polifenoloxidase (PPO) é uma das enzimas responsáveis pelo escurecimento enzimático que na presença de oxigênio atacam os ácidos fenólicos transformando em orto-

quinonas que rapidamente se condensam ou reagem com outros compostos fenólicos. O produto final da reação é a melanina que é um composto insolúvel responsável pelo escurecimento enzimático, como mostra a figura 4. Essa enzima possui cobre no seu centro ativo e funciona como oxidases de função mista, catalisando dois tipos de reação: monoxigenase e oxidase (difenois para quinonas) (QUEIROZ, 2008).

Figura 4. Reação de escurecimento enzimático: (A). Ácido clorogênico; (B) O-Quinona; (C) Ácido Quínico e Àcido cafeíco; (D) O-Quinona;



Fonte: Adaptado de Araújo (2011).

A peroxidase (POD) pode levar a destruição da vitamina C, descoloração de carotenoides e antocianinas. Sua atividade está ligada a modificações sensoriais. Sua ação enzimática com o peróxido de hidrogênio e também com o  $O_2$ , formando os produtos intermediários e o mesmo produto final, as quinonas e melaninas, respectivamente (CHITARRA, CHITARRA; 2005).

A temperatura pode ser modificada para que ocorra uma inativação das enzimas do escurecimento, como por exemplo, uma temperatura de  $80\text{ }^\circ\text{C}$  pode afetar a polifenoloxidase (AYDEMIR, 2004). Segundo Araujo (2011), a polifenoloxidase não pertence a classe de enzimas termorresistente. Uma temperatura entre  $70 - 90\text{ }^\circ\text{C}$  seria

suficiente para destruir as funções catalíticas. Em relação a peroxidase ele afirma que é termorresistente, mas um branqueamento entre 90 - 100 °C seria suficiente para inativação. Um problema na adição de temperatura ao sistema é a degradação compostos fenólicos.

Vários métodos tem sido estudados visando a compreensão e limitação desse fenomeno. Segundo Araujo (2011), existem quatro formas de diminuir ou até inativar a ação das enzimas do escurecimento, são elas: tratamento térmico; exclusão ou remoção de um ou ambos os substratos; redução do pH em dois ou mais unidades abaixo do pH ótimo(6) para PPO e de pH ótimo (3 a 7) para a peroxidase; adição de substâncias redutoras que inibam a ação das enzimas ou previnam a formação da melanina. Ioannou, Ghoul (2013) relataram que vários agentes químicos podem ser usados. O campo de ação seriam quatro classes de estruturas químicas, entre eles, antioxidantes secundários, como os carotenoides; a adição de agentes complexantes como ácido cítrico; agentes removedores ou controladores de oxigênio, como o ácido ascórbico e a remoção de radicais livres, como por exemplo, os tocoferóis.

Em relação à quantificação da atividade enzimática em pitayas vermelhas na literatura carece de uma maior investigação, visto que até o período de elaboração dessa pesquisa não foi encontrado nenhuma tese ou dissertação que tenha uma abordagem de caráter mais conclusivo sobre a polifenoxidase e peroxidase em pitayas vermelhas.

### **3.3 METABOLÔMICA**

#### **3.3.1 Conceitos Gerais**

A análise global dos sistemas biológicos tem se apresentado como um grande desafio na caracterização dos sistemas biológicos em geral. Sendo conhecida por ciências ômicas tem o objetivo de analisar qualitativamente e/ou quantitativamente os genes, proteínas e metabólicos primários e secundários oriundos de células e analisadas por sistemas estatísticos informatizados (bioestatística e bioinformática) (SUSSULINI, 2017; CANUTO *et al.*, 2018).

As ciências ômicas são divididas em várias áreas específicas de estudo que podem ser relacionadas durante a pesquisa, como por exemplo, a proteômica (estudo dos sistemas proteicos), a genômica (estudo dos genes), a transcriptômica (estudo dos transcritos genéticos, RNA's), e a metabolômica (estudo dos metabólomas). Oliver *et al.*(1998) relataram pela primeira vez o termo metabolômica relacionando a análise de concentração dos metabólitos as

modificações no padrão de expressão gênica. O Estudo da metaboloma está diretamente relacionado ao estudo das moléculas que constituem um organismo. A aplicação de métodos analíticos (qualitativos ou quantitativos) comparativos que produzem sinais espectroscópicos ou cromatográficos que apresentem características químicas dos organismos é denominada Metabolômica. Com isso, amostras de baixo peso molecular que podem ser considerados marcadores químicos funcionam como impressões digitais dos compostos estudados (MADSEN; LUNDSTEDT; TRYGG, 2010; ABDELNUR, 2011; FUNARI *et al.*, 2013; SUSSULINI, 2017; CANUTO *et al.*, 2018).

A análise através da metabolômica pode ser direcionada (“*Targeted*” e “*Untargeted*”), em que determinadas moléculas já conhecidas são estudadas, e metabolômica não direcionada (“*Non-Targeted*”), em que é feito um perfil geral de todos os metabólitos presentes no organismo, sendo também dividido em análise qualitativa ou análise quantitativa, *Targeted* e *untargeted*, respectivamente. Observa-se que podem ser obtidas as impressões digitais (*metabolite fingerprinting*) que determina diferenças entre as moléculas e perfil metabólico (*metabolite profiling*) (DUDLEY *et al.*, 2010; DE VOS *et al.*, 2007; LIN *et al.*, 2011; ABDELNUR, 2011, ROCCHETTI, *et al.*, 2018).

As técnicas normalmente utilizadas para expressar o perfil metabolômico são: cromatografia líquida (CL), cromatografia gasosa (CG), normalmente essas duas técnicas acopladas a espectrometria de massas, a espectros de infravermelho médio, ou transformada de *Fourier* (FTIR), espectroscopia vibracional do infravermelho próximo (NIR) e de Raman. Além disso, podem ser usadas técnicas de ressonância magnética nuclear (RMN) em suas abordagens uni e bidimensionais e quantitativas (QRMN). Essas análises produzem cromatogramas e espectros que são fundamentais para estabelecimento do perfil químico das amostras estudadas. Conforme descrito na tabela 1 (MARACHIN *et al.*, 2017)

Tabela 1 - Técnicas analíticas, especificidades e aplicações.

<i>Técnica Analítica</i>	<i>Características</i>	<i>Aplicações</i>
<i>CG-MS</i>	Alta sensibilidade, analitos voláteis somente, baixo custo.	Metabólico(s) alvo(s) e metabolômica.
<i>CL-MS</i>	Alta sensibilidade, analitos não voláteis/termoinstáveis, alto custo.	Metabólico(s) alvo(s), perfil metabólico e metabolômica.
<i>RMN</i>	Baixa sensibilidade, alta reprodutibilidade não destrutiva, alto custo.	Perfil metabólico, padrão metabólico ( <i>fingerprint</i> ) e fluxo metabólico.
<i>EM</i>	Alta sensibilidade, alto custo, usualmente acoplada á técnica de separação.	Metabólico(s) alvo(s), perfil metabólico, padrão metabólico ( <i>fingerprint</i> ), metabolômica e fluxo metabólico.
<i>FTIR, NIR e RAMAN</i>	Baixa resolução, alta reprodutibilidade e rendimento, não destrutiva, baixo custo	Padrão metabólico ( <i>fingerprint</i> )

*Fonte: Adaptado de Marachin et al. 2017.*

A aplicação de estatística combinados o perfil químico é denominado de quimiometria. Dados esses obtidos a partir das técnicas anteriormente citadas (*UPLC-QTOF-MS* e *CG-MS*) e agrupados em matrizes que quando relacionadas matematicamente produzem informações que explicitam os biomarcadores, conseqüentemente suas semelhanças e diferenças entre as amostras estudadas analiticamente (KHAKIMOV, GÜRDENIZ, ENGELSEN, 2015; MARACHIN *et al.*, 2017).

As análises multivariadas incluem: a análise não supervisionada que agrupa as amostras por semelhança entre elas, sendo realizada a visualização por meio de dendogramas (*HCA*), a análise de compostos principais (*PCA*) que serve para identificar grupos de variáveis inter-relacionadas, a análise de mínimos quadrados parciais (*PLS*), a análise de mínimos quadrados parciais ortogonais (*OPLS-DA*), sendo observado que as análises (*PCA*, *PLS-DA* e *OPLS-DA*) são descritas por vetores de pontuação (*score vectors*) e vetores de carga (*loadings vectors*). Além disso, têm *Heatmaps* que são uma forma de visualizar a combinação de



processos de *clustering hierárquico* e os *Vip Scores* (gráfico de importância em projeção) que relacionam as variáveis x,y, sendo uma ferramenta importantíssimo para a determinação dos íons (Marcadores moleculares) de diferenciação das análises metabólicas (TRIVEDI et al., 2012, KHAKIMOV; GÜRDENIZ; ENGELSEN, 2015; MARACHIN *et al.*, 2017).

### 3.3.2 Compostos Bioativos na Pitaya Vermelha

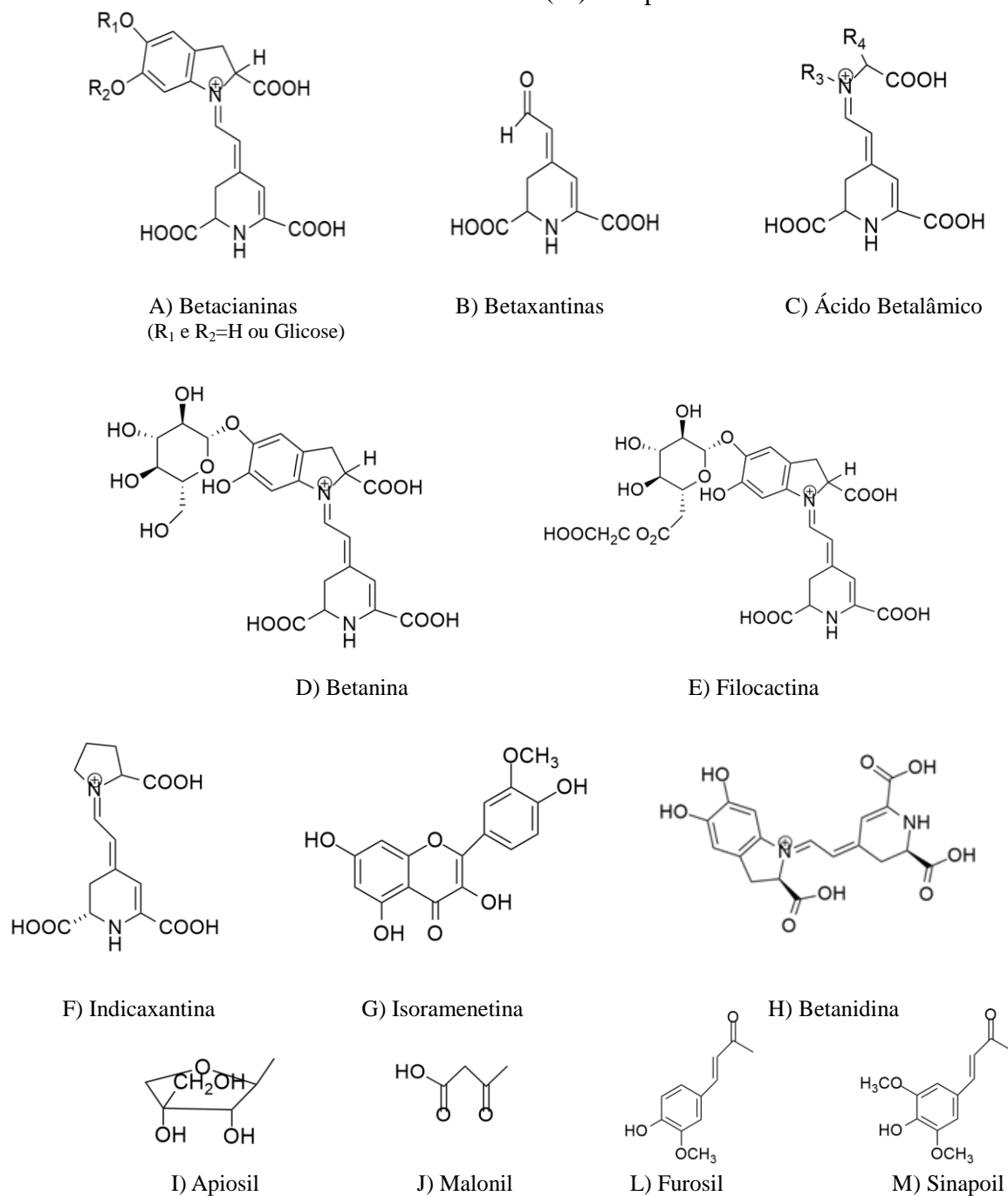
Vários autores têm desenvolvido estudos em relação a família, ao gênero e a espécie relacionados a presença de compostos fenólicos, oligossacarídeos e antioxidantes na pitaya vermelha (ESQUIVEL; STINTZING; CARLE, 2007, ZAINOLDIN; BABA, 2009, KHALILI *et al.*, 2012, 2014).

Alguns pigmentos têm sido estudados na pitaya vermelha, dentre eles, a betalaína que historicamente tem sido menos estudada do que os outros três principais pigmentos (carotenóides, clorofilas e antocianinas), mas que nos últimos anos tem tido uma relevante produção literária devido a sua coloração atraente, a atividade antioxidantes, as atividades anticancerígenas, hipolipidêmicas, hepatoprotetoras, antiinflamatórias e antidiabéticas ao estudo de seu mecanismo biosintético para aplicação em produtos alimentares (STINTZING; CARLE, 2004; STINTZING; CARLE, 2005; STINTZING; CARLE, 2007; CLIFFORD *et al.*, 2015; ESATBEYOGLU *et al.*, 2015; GENGATHARAN; DYKES; CHOO, 2015; GANDIA-HERRERO; ESCRIBANO; GARCIA-CARMONA, 2016; KHAN, 2016, THIRUGNANASAMBANDHAM; SIVAKUMAR, 2017; POLTURAK; AHARONI, 2018).

As betalaínas são biosintetizadas de um aminoácido aromático do metabolismo secundário de plantas, a tirosina, principalmente pela via do chiquimato. A ação da enzima tirosinase realiza a hidroxilação da tirosina para L-3,4-dihidroxifenilalanina (L-DOPA). Então, ocorre a conversão da L-DOPA em ácido betalâmico, em duas fases realizadas pela enzima *DOPA* 4,5-dioxigenase. Posteriormente podem ocorrer reações de glicolização e acilação levando a síntese de vários compostos novos de betacianina. Esses compostos formados podem ser ligados ao ácido glicurônico, soforese, ramnose, apiose e também por esterificação podem ser ligados a alguns ácidos, como por exemplo, ácido malônico, ferúlico, caféico e p-océânico, formando pigmentos nitrogenados e podendo ser armazenados no vacúolo (STEGLICH; STRACK, 1990; GIROD; ZRYD, 1991; HERRMANN, 1995; STRACK *et al.*, 2003; CHRISTINET *et al.*, 2004; GROTEWOLD, 2006; TZIN; GALILI, 2010; KHAN, 2016; POLTURAK; AHARONI, 2018; DELIA; RODRIGUEZ-AMAYAA,

2019). Além disso, autores como Wybraniec *et al.*, 2001, 2002, 2007, 2009, 2010, 2011, Kumorkiewicz; Wybraniec, 2017 e Stintzing *et al.*, 2004, 2007 tem relatado algumas possíveis modificações da estrutura primária da betalaína (Figura 5).

Figura 5. Moléculas de (A) betacianinas (vermelhas), (B) betaxantinas (amarelas) e do seu precursor comum, o (C) ácido betalâmico. Além disso, estruturas da (D) Betanina, (E) Filocactina, (F) Indicaxantina, (G) Isohamnetina, (H) Betanidina, (I) Apiosil, (J) Malonil, (L) Furosil e (M) Sinapoil.



Fonte: Adaptado de Wybraniec *et al.* 2001, 2002, 2007, 2009, 2010, 2011, Kumorkiewicz; Wybraniec, 2017 e Stintzing *et al.* 2004, 2007; Valente *et al.* 2010.

A betalaína é um pigmento solúvel em água, em metanol e que pode ser extraído com o auxílio de ultrassom em condições otimizadas (THIRUGNANASAMBANDHAM; SIVAKUMAR, 2017). Reconhecido pela coloração característica que pode ser vermelha ou amarela, correspondendo as betacianinas e betaxantinas, respectivamente. Possui reconhecida capacidade antioxidante. Kunnika, Pranee (2011) observaram que através do efeito da maceração enzimática sobre a polpa e a casca da pitaya vermelha podem ser aumentados os valores de antioxidantes, compostos fenólicos e betacianina devido à quebra das ligações glicosídicas.

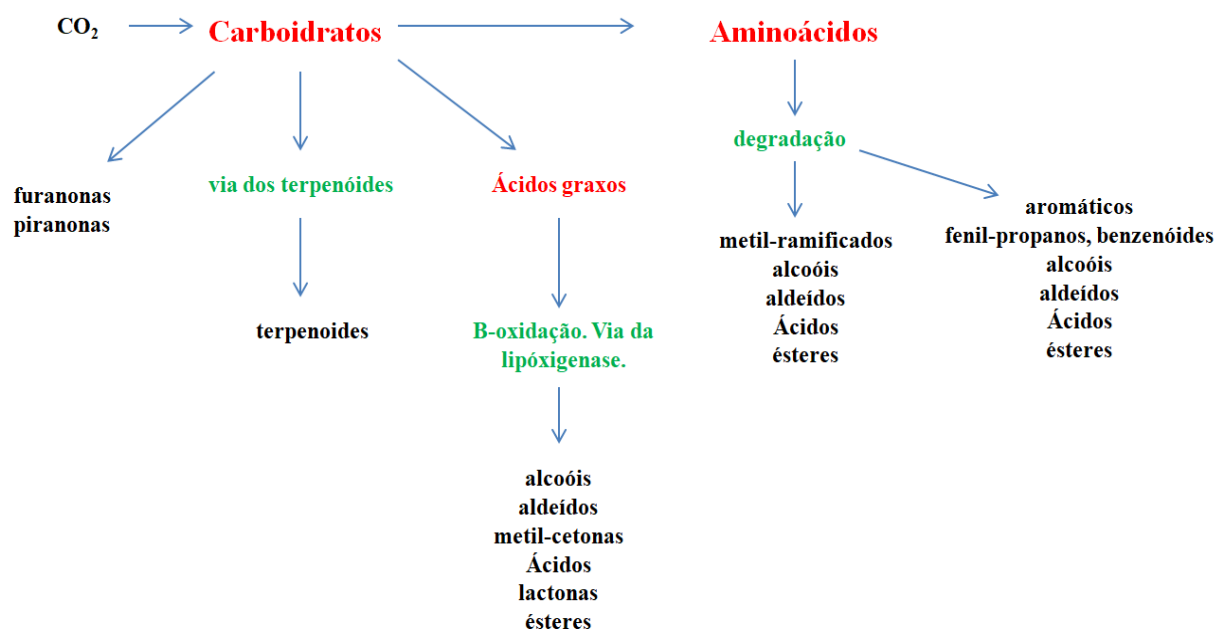
O estudo da via biosintética da betalaína tem avançado na busca por uma total compreensão do mecanismo. O que é benéfico visando facilitar o estudo das moléculas de betalaínas nas plantas e seus benefícios para a saúde (POLTURAK; AHARONI, 2018). Além disso, na família Cactaceae tem sido relatado a presença de alguns alcalóides e flavonóides, como por exemplo, indicaxantina e isorhamnetina, respectivamente (STINTZING; CARLE, 2005, PARK; CHUN, 2007, VALENTE *et al.*, 2010). Também é relatada na literatura a presença de licopeno, que é um antioxidante natural (ZAINOLDIN; BABA, 2009).

Em relação aos oligossacarídeos, Khalili *et al.*, (2014) afirmam que a quantidade de oligossacarídeos é significativamente maior na polpa da fruta em comparação com a casca, que pode ser usada para o desenvolvimento de alimentos funcionais. Na polpa da pitaya vermelha foram encontradas proporções razoavelmente altas de oligossacarídeos prebióticos em comparação com pitaya branca.

Sarmento (2017) relata uma estabilidade de 32 dias para a polpa da pitaya vermelha armazenada a  $10 \pm 1$  °C e  $95 \pm 5\%$  UR. Os autores observam que não houve perdas na qualidade e a manutenção de elevados teores de açúcar, sólidos solúveis e firmeza do fruto ao final do armazenamento. Também foi observado por Priatini (2015) que a estabilidade das betacianinas em casca de pitaya vermelha é afetada pelo pH, tipo de solvente de diluição e temperatura. Em temperatura ambiente (25 °C) o metanol tem um maior fator de extração em relação a água e menor fator de degradação de betacianina em um período de 5 horas.

Na literatura tem sido observado que em base seca a pitaya possui elevado teor de carboidratos (ABREU *et al.*, 2012; SATO, 2014), o que pode contribuir para a formação de compostos voláteis que são responsáveis pelos aromas de frutos. A figura 6 mostra que um dos principais precursores de aldeídos, cetonas e ésteres presentes em frutos é decorrente da via dos carboidratos, ácidos graxos e aminoácidos (Schwab *et al.*, 2008).

Figura 6. Principais precursores e algumas vias metabólicas de formação dos compostos voláteis.



Fonte: Adaptado de Schwab *et al.*, 2008.

A metabolômica dos voláteis por *CG-MS* da pitaya foi estudado anteriormente por Celis *et al.*, (2012) e Obeland *et al.*, (2016). Celis *et al.*, (2012) realizou o estudo com a pitaya amarela da polpa branca e relataram um procedimento de extração de voláteis usando um sistema de destilação a vapor e, em seguida, analisaram através de diluição do extrato de aroma (AEDA) para identificar compostos potencialmente ativos de odor que poderiam influenciar o sabor. Obeland *et al.*, (2016) relataram um estudo de seis espécies de pitaya da região da Califórnia, onde realizaram uma microextração em fase sólida (SPME) auxiliada por um sistema robótico Gerstel MPS-2 e para captura dos voláteis fibras 75- $\mu$ m carboxeno/polidimetilsiloxano e encontraram a presença de várias classes químicas, entre elas, aldeídos, alcoóis e cetonas.

Foi realizada uma exaustiva pesquisa bibliográfica na literatura e não foi encontrado nenhum trabalho de caráter conclusivo relacionando processos diferentes de despulpamento, análises químicas, fisico-químicas, enzimáticas, metabolômica de compostos voláteis e não voláteis presentes na pitaya vermelha e quimiometria.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Matéria Prima

Os frutos de pitaya [*Hylocereus polyrhizus* (Webber) Britton & Rose] foram fornecidos pela empresa Frutacor, localizada no Vale do Jaguaribe - CE (05° 53 '26 "S; 38° 37 '19" W). Após receber a pitaya, os frutos foram lavados, higienizados e processados no Laboratório de Processos Agroindustriais da Embrapa Agroindústria Tropical (Fortaleza-CE).

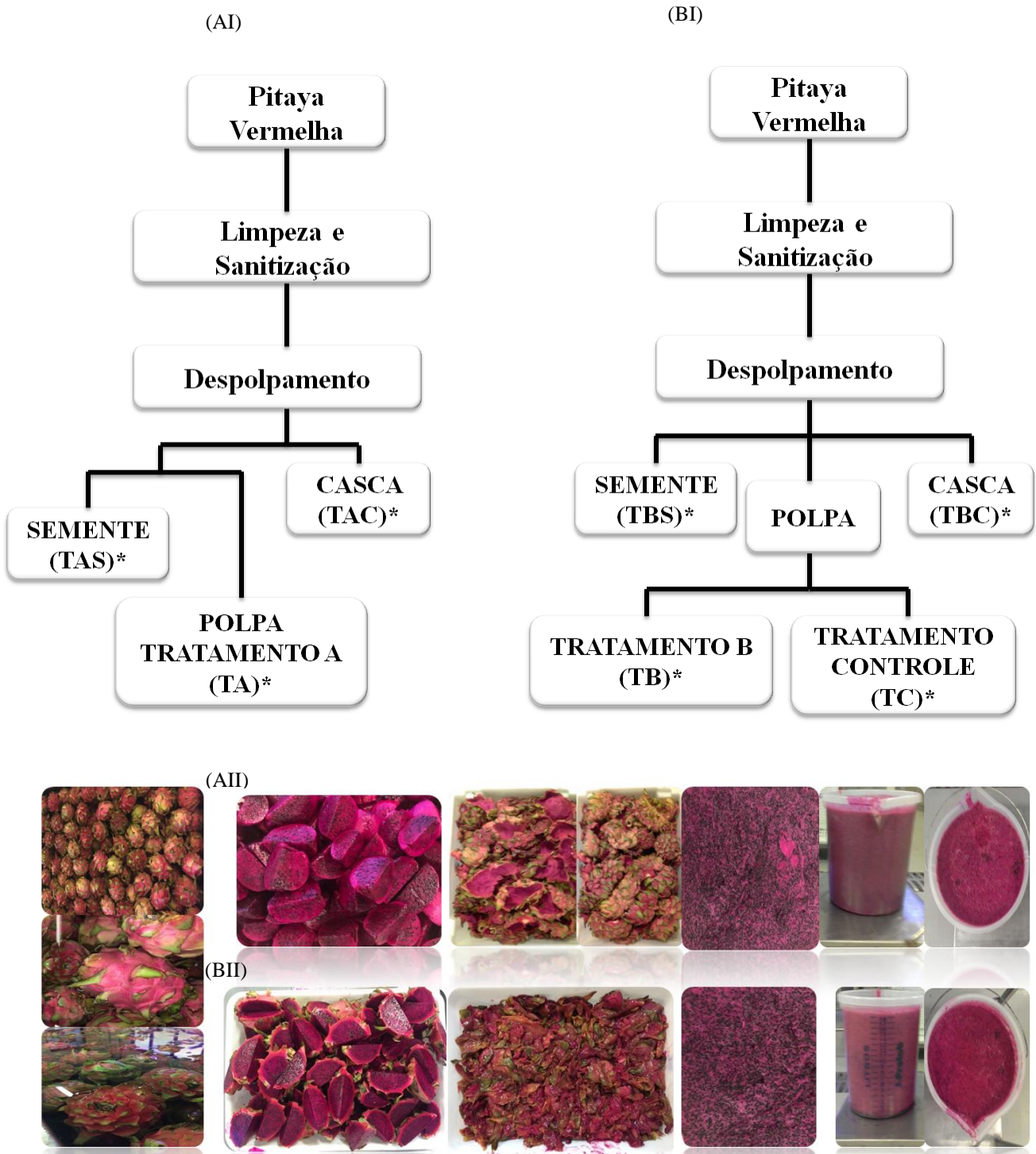
### 4.2 Despolpamento da Pitaya

A pitaya foi então submetida a três tipos de tratamentos para o seu despolpamento, utilizando uma despoldadeira (ITAMETAL/BONINA 0,25 DF), com uma capacidade média de processamento de 100 kg.h<sup>-1</sup>. Para cada um, três lotes de aproximadamente 100 kg de frutos frescos foram processados a fim de obter os parâmetros para o cálculo do rendimento.

Para o despolpamento da pitaya, os seguintes tratamentos foram empregados: O Tratamento A, na qual ocorreu a separação da polpa manualmente da casca e submetida a despolpamento em peneira de 0,8mm; processamento B, em que a pitaya foi fracionada em quatro partes e submetida a despolpamento com peneiras 2,5 mm e 0,8 mm. Neste processo (B), foi utilizado 500 ppm de ácido ascórbico e um controle, sem ácido, foi usado para comparação. Nesta etapa do projeto, foram obtidos os seguintes materiais: polpa (TA, TB, TC), casca (TAC e TBC) e sementes (TAS e TBS) da pitaya vermelha conforme apresentado na figura 7.

Todos esses materiais obtidos foram armazenados a -18 °C até as análises. O rendimento dos processos foi obtido pela seguinte equação (1):  $\text{Rendimento} = (\text{Massa de polpa} \times 100) / \text{Massa total do processo}$ . De uma forma geral, foram realizados dois tipos de processamentos de acordo com os seguintes fluxogramas:

Figura 7. (AI) - Fluxograma de obtenção dos diferentes frações de pitaya do Tratamento A: polpa, semente e casca; (AII) – Imagem da pitaya in natura, polpa, casca e semente do tratamento A. (BI) - Fluxograma de obtenção dos diferentes produtos de pitaya do Tratamento B: polpa, semente e casca e polpa do Tratamento C; (BII) - Imagem da pitaya in natura, polpa, casca e semente do tratamento B e C.



### **4.3 Análises Químicas, Físico Químicas e Enzimáticas**

#### **4.3.1 *Potencial Hidrogeniônico (pH)***

Determinou-se a partir de um medidor de pH digital (Mettler JEMWA 3510pH) calibrado com soluções tampão de pH 4,0 e 7,0 (IAL, 2008).

#### **4.3.2 *Acidez Titulável***

Utilizou-se 1,0 g de amostra diluída em 50 mL de água destilada. Com o auxílio do potenciômetro titulométrico automático (HI 901/HI 902 – *HANNA INSTRUMENTS*) foi titulado com NaOH 0,1 N até pH 8,1(IAL, 2008). A acidez foi expressa em % de ácido málico.

#### **4.3.3 *Sólidos Solúveis***

O teor de sólidos solúveis (SS) foi determinado utilizando um refratômetro digital, modelo (*ATAGO POCKET PALM-3*), os valores foram expressos em °Brix, conforme a AOAC (2005).

#### **4.3.4 *Umidade***

Seguiu-se a metodologia segundo o método 934.01 - AOAC, 2005, onde as amostras foram colocadas em cadinhos de porcelana e levados à estufa em temperatura de 105 °C ± 5 °C, para remoção de água por aquecimento. Após as amostras foram adicionadas e submetidas a temperatura de 105 °C até peso constante.

#### **4.3.5 *Cinzas***

As amostras foram pesadas em cápsulas de porcelana taradas anteriormente e incineradas em forno mufla a 550 °C durante 6 horas. Posteriormente foram resfriadas em dessecador por 1 h e pesadas (método 923.03 – AOAC, 2005).

#### **4.3.6 Proteínas**

Seguiu-se a metodologia de Kjeldahl que consiste em três etapas, a de digestão, a destilação e a titulação. Os resultados foram expressos em nitrogênio total seguindo o método 984.13 – AOAC (2005).

#### **4.3.7 Lipídeos**

Foi determinado pela análise de extrato etéreo utilizando extratora a alta temperatura modelo XT15 da ANKOM, descrito conforme proposto pelo método Am 5-04 da ANKOM, 2009.

#### **4.3.8 Carboidratos**

O teor de carboidratos foi determinado a partir da diferença entre o total da amostra, que representa os 100% e os valores obtidos a partir das análises de lipídeos, proteínas, umidade e cinzas (AOAC, 2005)

#### **4.3.9 Valor Calórico**

Determinou-se o valor calórico a partir do cálculo das médias aritméticas dos teores de carboidratos, proteínas e lipídios e multiplicou-se por 4 kcal/g, 4 kcal/g e 9 kcal/g, respectivamente, de acordo com o sistema de Atwater (MONTEIRO et al., 2008).

#### **4.3.10 Fibras**

As frações insolúveis (FDI) e solúveis (SDF) da fibra dietética alimentar foram determinadas de acordo com o método 991.43 da AOAC (2005), utilizando analisador automático de fibra alimentar TDF da ANKON (ANKON Technology Corporation). A fibra alimentar total (TDF) foi obtida pela soma das frações insolúvel e solúvel.



#### **4.3.11 Metodologia para Análise dos Ácidos Graxos de Pitaya**

Para determinar o perfil de ácidos graxos das sementes de pitaya, as amostras de gordura previamente extraídas foram convertidas em metil ésteres de ácidos graxos (FAMES), seguindo o procedimento descrito por Hartman; Lago (1973). Após a extração, os materiais foram analisados por cromatógrafo equipado com um Detector de Ionização por Chama (GC2010, Shimadzu, Kyoto, Japão) e uma coluna capilar de biscianopropil polidimetilsiloxano em fase estacionária (SP2560, 100m × 0,25mm, df 0,20 SUPMCO®, BELLEFONTE, PA, EUA). As condições de temperatura da estufa da coluna foram as seguintes: a temperatura inicial foi mantida a 80 °C, aumentada para 11 °C/min a 180 °C/min e 5 °C/min a 220 °C/min e depois mantida durante 23 min. O modo de injeção utilizado foi o de divisão de fluxo (*Split* de 1:30) e o gás carreador foi o hidrogênio, com fluxo constante de 1,5 mL/min. As temperaturas do injetor e do detector foram de 220 °C, cada. Os FAMES foram identificados por uma comparação dos tempos de retenção com os de uma mistura padrão de ácido graxo previamente injetado (código CRM47885, SUPELCO®, BELLEFONT PA, EUA). A contribuição de cada composto para a mistura foi dada pela área relativa (%) de seu respectivo pico no cromatograma.

#### **4.3.12 Atividade Polifenoloxidase (PPO), Peroxidase (POD) e Análise de Cor da Polpa de Pitaya**

Para avaliar a atividade enzimática da polifenoloxidase (PPO) e peroxidase (POD) na polpa de pitaya (controle, TA e TB), um extrato enzimático de cada material foi preparado. Para a PPO, foi utilizado o método descrito por Sojo *et al.*, (1998), com adaptações. Resumidamente, num banho de água gelada, 0,1 g de polpa foi homogeneizada durante 5 minutos com 10 mL de tampão  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (0,01 mol/L, pH 6,0) contendo 4% 0,04 mg / g Triton X-100 e 0,02 g de polivinilpirrolidona (PVPP). Após centrifugação (5000 x g por 40 minutos a 4 °C), o precipitado foi descartado e o sobrenadante foi incubado em banho-maria por 10 minutos (37 °C), e então, centrifugado por 20 minutos (2000 xg 4 °C). O sobrenadante foi utilizado como um extrato para a análise da atividade da PPO, utilizando o método estabelecido por Robinson (1987). Neste método, a mistura de reação consistiu de 80 µL de tampão fosfato de potássio (0,1 mol/L, pH 6,0), 100 µL de extrato e 5 µL de substrato de pirocatecol (0,1 mol/L). Após incubação a 30 °C durante 30 minutos, a absorvância foi

medida a 395 nm. Uma unidade de atividade enzimática (em unidades de atividade, UA) foi definida como uma variação de 0,001 na absorbância e os resultados foram expressos como UA/min.mg.P. Os resultados foram calculados considerando o controle como 100%.

O extrato enzimático para determinação de POD foi preparado de acordo com o método descrito por Wissemann; Lee (1980), com adaptações. Num banho de água gelada, 0,5 polpa foi homogeneizada com 10 ml de tampão  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (0,05 mol/L, pH 7,0) contendo 1% de polivinilpirrolidona (PVP) durante 3 minutos. Após centrifugação (10.000 g por 10 minutos a 4 °C), o precipitado foi descartado e o sobrenadante foi considerado a fonte enzimática. O sobrenadante foi utilizado como extrato para análise da atividade da POD. A atividade foi determinada de acordo com Matsuno; Uritani (1972). A mistura reacional consistiu de 55  $\mu\text{L}$  de tampão  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (0,05 mol/L, pH 7,0), 300  $\mu\text{L}$  do extrato e 55  $\mu\text{L}$  de peróxido de hidrogênio a 3%. Após incubação a 30 °C durante 5 minutos, a reação foi extinta com a adição de bissulfito de sódio a 30%. Portanto, a absorbância foi medida a 470 nm e os resultados foram expressos como UA/min.mg.P. Os resultados foram calculados considerando o controle como 100%.

Além disso, as análises de cores foram realizadas medindo-se a refletância direta do sistema de coordenadas retangulares ( $L^*$ , brilho;  $a^*$ , intensidade de vermelho e verde; e  $b^*$ , intensidade de amarelo e azul) aplicando a escala de cores CIELAB usando ao colorímetro (MODELO CHROMA-METER CR-410, KONICA MINOLTA SENSING INC., OSAKA, JAPÃO). Os resultados foram também expressos pelo diferencial de cor ( $\Delta E$ ), calculado de acordo com a equação (2):  $\Delta E = ((\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2)^{1/2}$  (CARTER, 2004). Os tratamentos TA, TB e TC foram analisados.

#### **4.4 Estudo do Perfil Químico**

##### **4.4.1 Análise Metabolômica dos Compostos Voláteis (CG-MS)**

Foi retirado uma alíquota de 4 g de polpa de pitaya dos tratamentos A, B e C e adicionado 1,4 g de cloreto de sódio P.A. O material foi submetido a congelamento de -18 °C até a realização da análise cromatográfica.

Foi utilizado o método descrito por Célis; Gil; Pino, 2012, com adaptações. Os compostos voláteis de pitaya foram isolados da matriz por microextração em fase sólida em headspace (*HS-SPME*), utilizando uma fibra de Divinilbenzeno/Carboxeno/

Polidimetilsiloxano (DVB/CAR/PDMS) de 50/30  $\mu\text{m}$ . A análise foi realizada utilizando um cromatógrafo gasoso *Agilent*, modelo 7890B, equipado com um detector de espectrometro de massa, modelo 5977A. A coluna cromatográfica utilizada foi RTX 5 (tamanho de 30 m, 0,25 mm de diâmetro interno, 0,25 de espessura de filme). O programa de temperatura utilizado foi: 4  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$  de rampa de 40  $^{\circ}\text{C}$  a 110  $^{\circ}\text{C}$ , 16  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$  até 200  $^{\circ}\text{C}$ , permanecendo por 10 minutos e 7  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$  até 230  $^{\circ}\text{C}$ . As temperaturas do injetor e de interface entre o cromatógrafo e o detector de massa seletiva foram de 250  $^{\circ}\text{C}$  e a ionização foi feita por impacto de elétrons (70 eV) com a fonte de íons mantida a 150  $^{\circ}\text{C}$ .

Os resultados das análises foram expressos em abundância relativa. A identificação dos compostos foi realizada comparando os espectros de massa obtidos com os espectros do *NIST 1.6 Library* (Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia, *Gaithersburg, Md, EUA*). A identificação também foi feita comparando o índice de retenção linear calculado usando uma série homóloga de n-alcenos C8-C20 (de acordo com a coluna capilar usada) com os índices de retenção comparados às bases de dados online (*Nist Chemistry Webbook, Chemspider e Pubchem*) (Figura 8).

#### **4.4.2 Análise Metabolômica dos Compostos Não Voláteis (UPLC-QTOF-MS<sup>E</sup>)**

Os tratamentos foram submetidos à análise, sendo cada um deles analisado em quintuplicatas biológicas no sistema cromatográfico/espectrométrico. Para isso, os extratos foram submetidos a ultrassom. Inicialmente, pesou-se uma quantidade de 50 mg das amostras liofilizadas para um tubo de ensaio de 15 ml medindo 16 x 100 mm numa balança analítica. A extração dos compostos orgânicos de *Hylocereus polyrhizus* foi realizada utilizando uma metodologia adaptada relatada por Luz *et al.*, (2018).

Posteriormente, ao tubo de ensaio contendo a amostra, foi adicionado 4 mL de hexano 95% e a mistura foi levada para homogeneização em vórtex por 1 minuto. A extração dos compostos apolares foi realizada em banho ultrassônico por 20 minutos com potência fixa de 135 W. Em seguida, foi adicionado 4 mL de solução etanol/água (7:3), preparada previamente utilizando 140 mL de etanol 96% e 60 mL de água ultrapura, à mistura. Novamente, a homogeneização da mistura foi feita em vortex durante 1 minuto e realizada a extração dos compostos polares em banho ultrassônico por 20 minutos. Depois, os tubos de ensaio foram levados a centrifuga para decantar o material vegetal não dissolvido à 3000 rpm por 10 minutos. Ao final do procedimento, com o auxílio de uma pipeta de Pasteur, foi

retirada uma alíquota de 1 mL da fase inferior polar (etanol/água) e transferiu-se para uma seringa acoplada ao filtro de PTFE 0,22 µm. A alíquota filtrada foi recolhido em *vials* e encaminhado para análise em *UPLC-QTOF-MS<sup>E</sup>*. Na Figura 8, tem-se a ilustração do procedimento de extração para análise em *UPLC-QTOF-MS<sup>E</sup>*.

#### **4.4.3 Análise do Perfil Químico por UPLC-QTOF-MS<sup>E</sup>**

As amostras foram submetidas a análise num sistema. As análises foram realizadas num sistema *Waters Acquity* de Cromatografia Líquida de Ultra Performance (*UPLC*) acoplado a um analisador Tempo-de-Voo (*TOF*) *Waters Micromass LCT* espectrometria de massa equipado com uma interface *electrospray (ESI)*. As separações foram realizadas em coluna C18 (*Waters Acquity UPLC C18*, 150 milímetros × 2,1 milímetros, 1,7 µm). Os perfis dos metabólitos nos extratos foram obtidos inicialmente por um gradiente exploratório, sendo as fases móveis: H<sub>2</sub>O (A) e acetonitrila (B), cada uma destas contendo ácido fórmico (0,1% v/v). As amostras foram submetidas ao seguinte gradiente exploratório: 2 - 95%. A vazão de 500 µL/min. As análises de cada extrato foram realizadas em modos de ionização positivo no intervalo de 100 - 1200 Da. As condições da fonte ESI serão definidas da seguinte forma: tensão capilar 2800 V, tensão cone 40 V, temperatura da fonte 120 °C, temperatura dessolvação 330 °C, fluxo de gás de cone de 20L/h, o fluxo de gás dessolvatação 600 L/h, e microcanais tensão da placa - detector a 1900 V.

#### **4.4.4 Estratégia de Desrepliação/Identificação**

Na identificação estrutural dos metabólitos foram consideradas as fórmulas moleculares e os valores de m/z obtidos a partir de espectros de alta resolução, observados nos picos cromatográficos de maior intensidade. A partir de cada fórmula, foi determinado o erro relativo em *ppm*. Somente fórmulas moleculares com valores inferiores a 5 *ppm* de erro foram consideradas para estudos posteriores em *MS/MS*. As propostas estruturais das moléculas foram realizadas através dos dados de *MS/MS*, por meio do estabelecimento de padrões de fragmentação racionais (BOUSLIMANI *et al.*, 2014; KIND; FIEHN, 2007, 2010; MOCO *et al.*, 2007; YULIANA *et al.*, 2013).

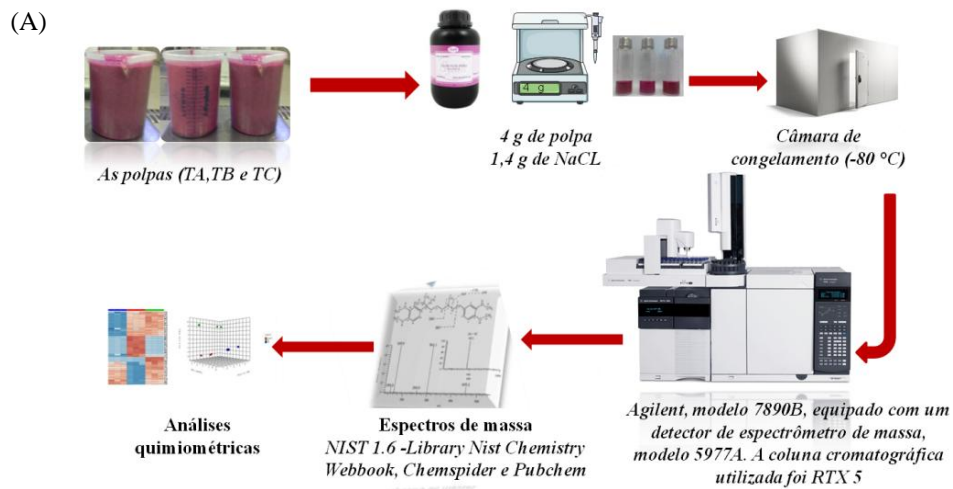
#### 4.4.5 Análise de Dados Quimiométricos e Identificação De Metabólitos

Os dados das áreas de pico dos compostos voláteis, obtidos através dos cromatogramas, foram normalizados pela mediana tratada na escala logarítmica e escalonados de acordo com a escala de Pareto. A análise quimiométrica usando *Metaboanalyst 3.0* ([www.metaboanalyst.ca](http://www.metaboanalyst.ca)) foi feita a partir de matrizes de correlação normalizadas de dados normalizados. Para análise de variância (ANOVA), foi utilizado o teste de *LSD (Minor Significant Difference)* de Fisher, análise de *FDR*, agrupamento hierárquico, *Heatmap* e o programa *Minitab 17* (XIA *et al.*, 2015).

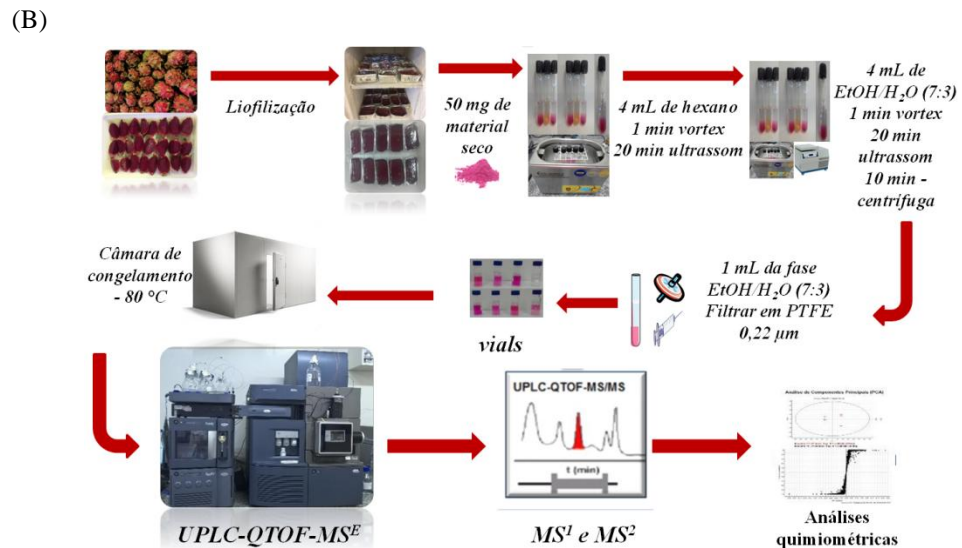
Os dados de *UPLC-QTOF-MS<sup>E</sup>* foram analisados usando o *software Marker Lynx XSv 4.1 (Waters Corporation)* para identificar potenciais marcadores discriminatórios das partes da pitaya (polpa, casca e semente). As sete amostras foram analisadas em quintuplicatas. Uma lista foi gerada com a identificação dos picos detectados usando o tempo de retenção dos pares ( $T_R$ ) - dados de massa ( $m/z$ ) baseada em sua ordem de eluição do sistema *UPLC*. As intensidades de íons para cada pico detectado foram normalizadas contra a soma das intensidades de pico dentro daquela amostra usando o programa de *software MarkerLynx XS v4.1*. Os íons de diferentes amostras foram idênticos quando os valores de  $t_r$  e  $m/z$  foram combinados. Os dados brutos foram submetidos ao *PCA* usando o modelo de Pareto. O *OPLS-DA* foi usado para validar o modelo de *PCA* e para identificar os metabólitos diferenciais. Os marcadores foram selecionados pela análise *S-Plot*.

A identificação parcial do metabólito foi realizada com base na massa exata do precursor *MS* e espectros de massa iônica *MS/MS* dos fragmentos de cada extrato vegetal, juntamente com o mecanismo de fragmentação. O uso combinado dessas informações em comparação aos dados de referência quimiotaxonômicos para a família (Cactacea), gênero (*Hylocereus*) e espécies (*polyrhizus*) utilizando uma grande pesquisa bibliográfica das bases de dados *SciFinder*, *ChemSpider* e *PubChem* foi a estratégia utilizada.

Figura 8. Esquema da análise de perfil químico por *CG-MS* e *UPLC-QTOF-MS<sup>E</sup>*



Fonte: Adaptado de Célis; Gil; Pino, (2012)



Fonte: Adaptado de Luz et al. (2018).

#### 4.5 Análises Estatísticas

Os dados obtidos da atividade enzimática (PPO e POD), análises químicas e físico-químicas, incluindo o perfil de ácidos graxos, foram submetidos ao teste de *Tukey* com nível de significância de 5% para comparação de média e desvio padrão, utilizando o programa estatístico *AgroEstat 1.0*.

## 5 RESULTADO E DISCUSSÕES

### 5.1 Rendimentos do Despolpamento

A pitaya foi dividida em três frações ao sair da despoldadeira, sendo elas a Polpa (TA, TB e TC), a casca (TAC e TBC) e a semente (TAS e TBS). A TB, como esperado, teve os maiores rendimentos (65,64%), uma vez que a casca é processada inicialmente junto com a polpa na parte interna, resultando em um aumento de rendimento em torno de 13%. Devido ao alto valor comercial, o rendimento no processamento da pitaya é fundamental para futuros trabalhos acadêmicos e aplicações na indústria de alimentos.

### 5.2 Análise de Cor e Atividade Enzimática da Polpa de Pitaya

A análise de cor e a atividade enzimática da polpa de pitaya foram medidas para cada tratamento (Controle, TA e TB) após o processamento (ver Tabela 1).

Tabela 2 - Efeito do tratamento na atividade relativa da polifenoloxidase (%) e da peroxidase (%) e os parâmetros de cor da pitaya [*Hylocereus polyrhizus* (Webber) Britton & Rose]

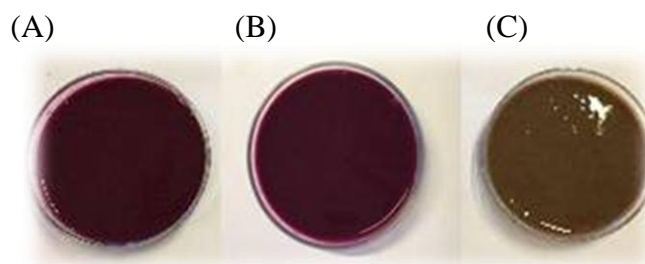
Análises		TRATAMENTOS		
		TC	TA	TB
Atividade Enzimática	Polifenoloxidase	100% <sup>a</sup>	47.51% <sup>c</sup>	60.84% <sup>b</sup>
	Peroxidase	100% <sup>a</sup>	58.26% <sup>b</sup>	66.87% <sup>b</sup>
Parâmetros de coloração	L	30.97 ± 0.23 <sup>a</sup>	28.7 ± 0.04 <sup>b</sup>	27.73 ± 0.02 <sup>c</sup>
	a*	18.71 ± 0.37 <sup>a</sup>	23.8 ± 0.03 <sup>b</sup>	21.37 ± 0.09 <sup>c</sup>
	b*	8.67 ± 0.35 <sup>a</sup>	4.19 ± 0.00 <sup>b</sup>	3.26 ± 0.06 <sup>c</sup>
	ΔE	-	TC/TA 7.15	TC/TB 6.84

\*O tratamento A (TA), no qual os frutos foram cortados em quartos, as cascas foram removidas manualmente antes de seu processo de polpação, e foram coadas através de peneira de 0,8 mm; tratamento B (TB), no qual os frutos inteiros foram utilizados diretamente no processo de despolpamento, na dose de 500 mg/kg de ácido ascórbico, para evitar processos oxidativos, e os frutos foram coados em peneira de 2,5 e 0,8 mm. Resultados

*expressos em média e desvio padrão; Médias com letras iguais, na mesma linha, não diferem no nível de 5% de significância para o teste de Tukey.*

A atividade de PPO e POD foi significativamente maior no controle, confirmando que no processamento de frutas inteiras, os compostos presentes na casca foram arrastados para a polpa, aumentando sua atividade enzimática. Consequentemente, a cor foi alterada (ver Tabela 1) quando  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  foram comparados com os outros tratamentos. A polpa e a casca são fontes de compostos fenólicos que são substratos para enzimas oxidativas que iniciam as degradações durante o processo de corte, despulpamento dos frutos e aeração (Abreu *et al.*, 2012). Para TA e TB, a atividade de PPO foi reduzida em 52,49% e 39,16%, respectivamente, e uma redução da atividade de POD em 41,74% e 33,13%, respectivamente. A diferença de cor foi de 7,15 ( $\Delta E_{TC \times TA}$ ) e 6,84 ( $\Delta E_{TC \times TB}$ ), muito superior à aceitável relatada por Rosenstritt *et al.* (1998).

Figura 9. Polpas mantidas em refrigeração (4 °C) para a análise de cor - (A) Polpa de pitaya vermelha do tratamento A, (B) Polpa de pitaya vermelha do tratamento B e (C) Polpa de pitaya vermelha Controle.



Fonte: Autor (2018).

Os resultados obtidos mostraram que o ácido ascórbico é capaz de reduzir as atividades de PPO e POD, resultando na manutenção da característica da cor da polpa da pitaya. Herbach *et al.* (2006) e Leong *et al.* (2018) mostram que o ácido ascórbico é responsável por uma maior estabilidade da degradação da betacianina. Strack *et al.* (2003) relatam que um pH levemente ácido estabiliza as betacianinas e inibe a possível oxidação pelas PPOs.



### 5.3 Caracterização Físico Química da Pitaya

Na Tabela 3, pode-se observar os valores obtidos a partir das análises de pH, acidez, sólidos solúveis, umidade, cinzas, lipídios, proteínas, carboidratos, valor energético e Fibras (SDF, IDF, TDF). A composição centesimal está descrita em base úmida expressando o valor nutritivo em 100g do fruto de pitaya. Importante observar que os valores descritos na tabela em comparação com os valores encontrados na literatura podem sofrer variação devido a cultura agrônômica e particularidades da planta. (STINTZING; CARLE, 2005)

A diferença dos tratamentos na composição química e físico-química da pitaya é apresentada na Tabela 3. A polpa de pitaya produzida pela TB não apresentou alterações marcantes na maioria de seus principais parâmetros químicos, exceto para pH e sólidos solúveis devido ao seu processo de acidificação. Em ambos os processos, a polpa foi composta principalmente de carboidratos (variando de 9,65% a 8,91%), composta principalmente de fibra alimentar (variando de 7,8% a 15,9%). Os níveis mais elevados de fibra dietética na TB podem ser explicados pelo processamento empregado desde que os frutos inteiros foram processados. Consequentemente, algumas fibras da casca foram incorporadas na polpa, melhorando seu valor nutricional.

Nos resultados de proteínas e lipídios, os valores foram inferiores a 0,5%. De acordo com nossos dados, Abreu *et al.* (2012) e Sato *et al.* (2014) também relataram baixas quantidades de proteínas e lipídios na polpa de pitaya. Os resultados obtidos a partir da casca de pitaya mostraram alterações em todos os parâmetros avaliados, com exceção dos teores de umidade e carboidratos (ver Tabela 3). A casca obtida do TB apresenta baixos valores de umidade, o que pode ser explicado pelo uso de toda a pitaya no processo de despulpamento. A despulpadeira foi usada para pressionar o material e, consequentemente, removeu mais polpa aderida na casca. Portanto, a redução de umidade pode ser observada. Da mesma forma, o conteúdo de fibras em TB foi superior ao TA. Devido ao aumento da superfície de contato referente ao tipo de processamento previamente descrito, permitindo que as enzimas atuem durante a análise das fibras.

Tabela 3 - Efeito do processamento nas características químicas e físico-químicas da polpa, casca e semente de pitaya (Processamento A e Processamento B).

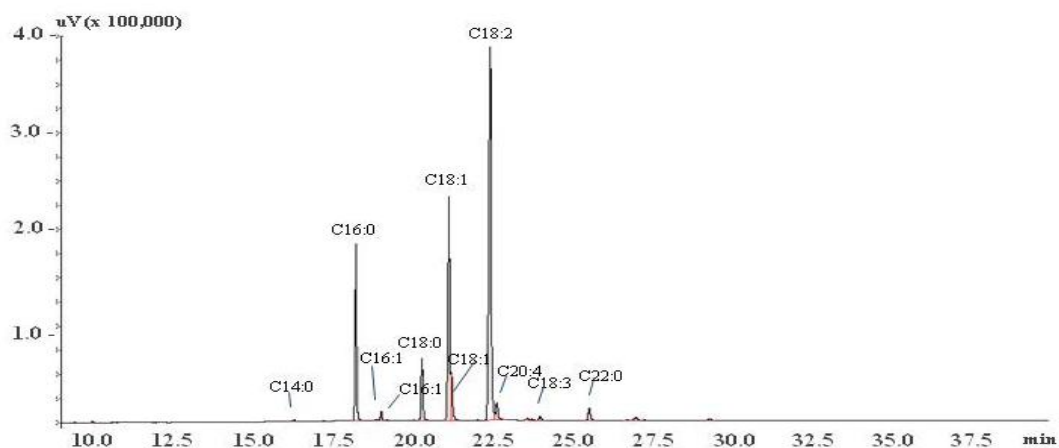
<i>Análises</i>	<i>Processamento A</i>			<i>Processamento B</i>		
	<b>TA</b>	<b>TAC</b>	<b>TAS</b>	<b>TB</b>	<b>TBC</b>	<b>TBS</b>
<b>pH</b>	4,88 ± 0,02 <sup>b</sup>	4,4 ± 0,01 <sup>d</sup>	5,48 ± 0,03 <sup>a</sup>	4,47 ± 0,01 <sup>cd</sup>	4,34 ± 0,01 <sup>d</sup>	4,99 ± 0,01 <sup>b</sup>
<b>Acidez (% ác. Málico)</b>	0,33 ± 0,03 <sup>b</sup>	0,41 ± 0,01 <sup>ab</sup>	0,43 ± 0,05 <sup>ab</sup>	0,34 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,46 ± 0,05 <sup>a</sup>	0,32 ± 0,02 <sup>b</sup>
<b>Sólidos solúveis (°Brix)</b>	9,97 ± 0,06 <sup>a</sup>	-	-	8,87 ± 0,06 <sup>b</sup>	-	-
<b>Umidade (%)</b>	89,46 ± 0,06 <sup>b</sup>	90,58 ± 0,06 <sup>a</sup>	77,23 ± 0,09 <sup>d</sup>	90,04 ± 0,41 <sup>ab</sup>	89,25 ± 0,49 <sup>b</sup>	80,89 ± 0,10 <sup>c</sup>
<b>Cinzas (%)</b>	0,39 ± 0,03 <sup>b</sup>	1,09 ± 0,04 <sup>a</sup>	0,15 ± 0,01 <sup>c</sup>	0,55 ± 0,04 <sup>b</sup>	1,05 ± 0,09 <sup>a</sup>	0,14 ± 0,01 <sup>c</sup>
<b>Lípidios (%)</b>	ND	ND	3,57 ± 0,15 <sup>a</sup>	ND	ND	2,55 ± 0,04 <sup>b</sup>
<b>Proteínas (%)</b>	0,5 ± 0,03 <sup>c</sup>	0,62 ± 0,01 <sup>c</sup>	2,25 ± 0,07 <sup>b</sup>	0,51 ± 0,01 <sup>c</sup>	0,53 ± 0,06 <sup>c</sup>	3,51 ± 0,17 <sup>a</sup>
<b>Carboidratos (%)</b>	9,65 ± 0,06 <sup>c</sup>	7,72 ± 0,12 <sup>e</sup>	16,8 ± 0,38 <sup>a</sup>	8,91 ± 0,06 <sup>cd</sup>	9,17 ± 0,34 <sup>cd</sup>	12,91 ± 0,17 <sup>b</sup>
<b>Valor energético (Kcal/100g)</b>	40,57 ± 0,32 <sup>bc</sup>	33,33 ± 0,51 <sup>e</sup>	44,04 ± 0,50 <sup>a</sup>	37,67 ± 0,21 <sup>cd</sup>	38,8 ± 1,59 <sup>cd</sup>	42,73 ± 0,36 <sup>ab</sup>
<b>Fibras SDF</b>	6,01 ± 0,00 <sup>e</sup>	2,70 ± 0,01 <sup>f</sup>	11,49 ± 0,01 <sup>c</sup>	10,40 ± 0,01 <sup>d</sup>	34,89 ± 0,00 <sup>a</sup>	11,70 ± 0,01 <sup>b</sup>
<b>Fibras IDF</b>	1,91 ± 0,01 <sup>f</sup>	51,71 ± 0,02 <sup>b</sup>	25,00 ± 0,02 <sup>c</sup>	5,11 ± 0,01 <sup>e</sup>	16,50 ± 0,00 <sup>a</sup>	37,60 ± 0,02 <sup>d</sup>
<b>Fibras TDF</b>	7,92 ± 0,02 <sup>f</sup>	54,41 ± 0,03 <sup>a</sup>	36,49 ± 0,03 <sup>c</sup>	15,51 ± 0,00 <sup>e</sup>	51,39 ± 0,10 <sup>b</sup>	49,30 ± 0,01 <sup>d</sup>
<b>Ácidos graxos na pitaya vermelha (%)</b>						
<b>Mirístico (C14:0)</b>	-	-	0,12 ± 0,00 <sup>a</sup>	-	-	0,12 ± 0,00 <sup>a</sup>
<b>Palmítico (C16:0)</b>	-	-	14,47 ± 0,08 <sup>a</sup>	-	-	14,13 ± 0,04 <sup>a</sup>
<b>Palmitoleico (C16:1)</b>	-	-	0,75 ± 0,01 <sup>a</sup>	-	-	0,82 ± 0,01 <sup>a</sup>
<b>Sapiênico (C16:1)</b>	-	-	0,11 ± 0,02 <sup>a</sup>	-	-	0,11 ± 0,02 <sup>a</sup>
<b>Estearíco (C18:0)</b>	-	-	5,89 ± 0,01 <sup>a</sup>	-	-	7,08 ± 0,00 <sup>a</sup>
<b>Oléico (C18:1)</b>	-	-	23,26 ± 0,30 <sup>a</sup>	-	-	26,04 ± 0,10 <sup>a</sup>
<b>cis-Vacênico (C18:1)</b>	-	-	3,96 ± 0,32 <sup>a</sup>	-	-	4,36 ± 0,04 <sup>a</sup>

<b>Linoléico</b>			45,86 ±			42,02 ±
<b>(C18:2)</b>	-	-	0,12 <sup>a</sup>	-	-	0,17 <sup>a</sup>
<b>Araquídico</b>			1,92 ±			1,99 ±
<b>(C20:0)</b>	-	-	0,08 <sup>a</sup>	-	-	0,04 <sup>a</sup>
<b>Linolênico</b>			0,42 ±			0,44 ±
<b>(C18:3)</b>	-	-	0,00 <sup>a</sup>	-	-	0,00 <sup>a</sup>
<b>Beênico</b>			1,45 ±			1,40 ±
<b>(C22:0)</b>	-	-	0,00 <sup>a</sup>	-	-	0,00 <sup>a</sup>
<b>Não identificados</b>	-	-	1,81 <sup>a</sup>	-	-	1,49 <sup>a</sup>

\*O tratamento A (TA), no qual os frutos foram cortados em quartos, as cascas foram removidas manualmente antes de seu processo de polpação, e foram coadas através de peneira de 0,8 mm; tratamento B (TB), no qual os frutos inteiros foram utilizados diretamente no processo de despulpamento, na dose de 500 mg/kg de ácido ascórbico, para evitar processos oxidativos, e os frutos foram coados em peneira de 2,5 e 0,8 mm. Resultados expressos em média e desvio padrão; Médias com letras iguais, na mesma linha, não diferem no nível de 5% de significância para o teste de Tukey.

Os ácidos graxos (AG) do óleo de semente de TA e TB obtidos foram determinados por meio da análise GC-FID em triplicata. Como apresentado na Tabela 3 e Figura 10, a porcentagem predominantemente saturada de óleo de semente de pitaya foram os ácidos palmítico (14,13-14,47%), esteárico (5,89-7,08%), araquídico (1,92-1,99%) e mirístico (0,12%), que apenas 22% do total de rendimento. Aproximadamente, 86% do total identificado no óleo das sementes consistem de ácidos graxos insaturados. Linoléico (42,02-45,86%) e oleico (23,26-26,04%) foram os principais compostos encontrados nas sementes. Na literatura, esses valores são confirmados por Ariffin *et al.*, (2009) e Lim *et al.*, (2010). A pitaya é reconhecida por suas altas porcentagens de ácidos graxos que podem trazer benefícios à saúde. O óleo natural pode ser usado em cosméticos e soluções terapêuticas (DARMSTADT *et al.*, 2002; KAMAIRUDIN *et al.*, 2014). Além disso, o óleo de semente de pitaya pode ser considerado um óleo de alto valor, pois contém uma quantidade significativa de antioxidantes naturais e tocoferóis (LIAOTRAKOON *et al.*, 2013).

Figura 10. Cromatograma padrão de ácidos graxos saturados e insaturados em óleo de semente de pitaya.



Fonte: Autor (2018)

#### 5.4 Análise de Identificação Usando CG-MS

Com o intuito de verificar as diferenças entre os perfis voláteis dos tratamentos empregados para obtenção da polpa de pitaya, todos os tratamentos (Controle, TA e TB) foram analisados pela técnica de *CG-MS*, juntamente com a análise quimiométrica. Para isso, o perfil metabólico foi investigado utilizando uma plataforma metabolômica global não direcionada. Em geral, um total de 80 metabólitos voláteis foram identificados em todos os tratamentos, que variaram de acordo com o tratamento empregado, consistindo em álcoois, aldeídos, cetonas, hidrocarbonetos, éteres, ésteres e ácidos graxos.

Obeland *et al.* (2016) avaliaram diferentes variedades de pitaya e identificaram 34 compostos voláteis, principalmente aldeídos, hidrocarbonetos, álcoois, cetonas, ésteres e furanos. Célis *et al.* (2012) relatam a presença de 146 compostos voláteis em outra variedade de pitaya (*Selenicereus megalanthus*), identificando 121 (83%), composto por terpenos, álcoois, ésteres, cetonas e outros compostos. Neste trabalho foram identificados 80 compostos (ver a Tabela 4), 51 compostos no controle (63,75%, consistindo de 14 álcoois, 8 aldeídos, 6 cetonas, 10 hidrocarbonetos, 1 éter, 9 ésteres e 3 ácidos graxos), seguido por 46 compostos (57,5%, consistindo de 18 álcoois, 7 aldeídos, 4 cetonas, 7 hidrocarbonetos, 1 éter, 4 ésteres e 5 ácidos graxos) foram identificados em TA, e 54 compostos no TB (67,50%, consistindo de 27 álcoois, 1 aldeído, 10 cetonas, 4 hidrocarbonetos, 9 ésteres e 3 ácidos graxos).

A composição do perfil volátil variou de acordo com o tratamento de polpa

empregado. Como discutido anteriormente, a adição de ácido ascórbico (TB) diminui as atividades de PPO e POD. Além disso, o processo foi eficaz para manter quase 66% dos compostos voláteis identificados no TA. Além disso, ocorreu a formação de novos compostos, que não foram encontrados no tratamento controle (ver Tabela 4).

Terpenóides, furanonas e ácidos graxos são formados a partir da via metabólica dos carboidratos. A lipoxigenase (LOX), a hidroperóxido liase (HPL) e a álcool desidrogenase (ADH) são as principais enzimas responsáveis pela formação de álcoois, aldeídos, cetonas, ácidos e ésteres secundários (SCHWAB; DAVIDO-RIKANATI; LEWINSOHN, 2008). Como observado na composição da pitaya, os altos níveis de carboidratos na polpa podem estar relacionados as maiores quantidades de álcoois formados no TB. Além disso, observou-se que a adição de ácido ascórbico aumentou a conservação de seus compostos glicosilados.

Tabela 4 - Identificação de compostos voláteis de pitaya [*Hylocereus polyrhizus* (Webber) Britton & Rose] obtidos por *CG-MS*.

<i>Compostos</i>	<i>CAS</i>	<i>Identificação</i>	<i>IR Cal</i>	<i>IR Lit</i>	<i>Descritores</i>	<i>Controle</i>	<i>TA</i>	<i>TB</i>
<i>ALCOOIS</i>								
3-metil-1-Butanol	123-51-3	MS	NC	-	Frutado			X
1-Pentanol	71-41-0	MS	NC	-	Doce balsamo	X	X	X
(Z)-2-penteno-1-ol	6261-22-9	MS	NC	-	Frutado			X
[S- (R *, R *)]-2,3-Butanodiol	513-85-9	MS	800	789	Frutado			X
2,3-Butanodiol	513-85-9	MS, IK	807	789	Frutado			X
(Z)-3-Hexen-1-ol	928-96-1	MS, IK	868	855	Gramma verde	X	X	X
1-Hexanol	111-27-3	MS, IK	881	869	Frutado e alcoólico	X	X	X
2-Heptanol	543-49-7	MS, IK	906	900	Erva doce floral e verde frutado	X		X
Cicloheptanol	502-41-0	MS, IK	980	986	Odor de outros			X
1-Heptanol	111-70-6	MS, IK	982	971	Folhado	X	X	X
1-Octen-3-ol	3391-86-4	MS, IK	989	978	Terra verde	X	X	X
3-Octanol	589-98-0	MS, IK	1002	981	Melão cítrico		X	
2-Etilhexanol	104-76-7	MS, IK	1039	1029	Floral	X	X	
Álcool Benzílico	100-51-6	MS, IK	1043	1041	Floral balsâmico fenólico			X
Trans - (2-etilciclopentil) Metanol	36258-08-9	MS, IK	1066	1058	-			X
(E)-2-Octen-1-ol	18409-17-1	MS, IK	1077	1069	Vegetal cítrico	X	X	X
1-Octanol	111-87-5	MS, IK	1080	1070	Floral	X		X
(5-Etilciclopent-1-enil) Metanol	36431-59-1	MS, IK	1082	1073	-			X
3,7-dimetil-1,6-Octadien-3-ol	78-70-6	MS, IK	1105	1198	Floral			X
Álcool Fenetílico	60-12-8	MS, IK	1118	1114	Floral		X	X
(Z)-3-Nonen-1-ol	10340-23-5	MS, IK	1162	1152	Melão casca verde	X	X	X
(E, Z) -3,6-Nonadien-1-ol	56805-23-3	MS, IK	1165	1175	Agradável doce		X	X

(E) -2-Nonen-1-ol	31502-14-4	MS, IK	1176	1171	Melão; Doce;		X	X
1-Nonanol	143-08-8	MS, IK	1166	1173	Floral			X
(Z) -2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimetil-	106-25-2	MS, IK	1271	1232	Limão 'natural' doce,	X	X	X
2-Tridecanol	1653-31-2	MS, IK	1511	1510	-	X	X	X
1-Tetradecanol	112-72-1	MS, IK	1687	1664	Frutado	X	X	X
2-Hexadecanol	14852-31-4	MS, IK	NC	-	-	X		
1,2-Tetradecanodiol	21129-09-9	MS	1714	1818	-		X	X
2-Pentadecanol	1653-34-5	MS, IK	1714	1690	-		X	X
1-Hexadecanol	36653-82-4	MS, IK	1886	1854	Floral		X	
<i>ALDEÍDOS</i>								
Hexanal	66-25-1	MS, IK	804	802	Frutado	X	X	
(E) 2-Hexenal	6728-26-3	MS, IK	862	862	-	X	X	
Heptanal	111-71-7	MS, IK	906	901	Verde fresco	X	X	
Benzaldeído	100-52-7	MS, IK	966	970	Cereja	X		
Benzeneacetaldeído	122-78-1	MS, IK	1048	1044	Rosa floral	X	X	
(E) -2-Octenal	2548-87-0	MS, IK	1064	1062	Pepino fresco	X	X	
Nonanal	124-19-6	MS, IK	1107	1102	Cítrico	X	X	X
(E) -2-Nonenal	18829-56-6	MS, IK	1164	1162	Odor gorduroso	X	X	
<i>CETONAS</i>								
3-Pentanona	96-22-0	MS	NC	-	Acetona etérea	X		X
2-Hexanona	591-78-6	MS	NC	-	Frutado			X
2-Heptanona	110-43-0	MS, IK	897	889	Frutado	X	X	X
3-Octanona	106-68-3	MS, IK	994	984	Ervas frescas de lavanda			X
6-metil-5-Hepten-2-ona	110-93-0	MS, IK	994	986	Frutado	X		X
2-Octanona	111-13-7	MS, IK	996	998	Ervas aromáticas naturais	X		X
2-Nonanona	821-55-6	MS, IK	1095	1090	Ervas verdes	X	X	X

2-Undecanona	112-12-9	MS, IK	1298	1295	Frutado	X	X	X
3-Pentadecanona	18787-66-1	MS, IK	1704	1648	-		X	X
Ciclododecanona	830-13-7	MS, IK	1868	1923	-			X
<i>HIDROCARBONETOS</i>								
D-Limonene	5989-27-5	MS, IK	1031	1010	Doce	X		
5-Etil-1-formilciclopenteno	36431-60-4	MS, IK	1035	1020	-	X	X	
Undecano	1120-21-4	MS, IK	1107	1100	-	X	X	
Dodecano	112-40-3	MS, IK	1203	1200	Alcano	X	X	X
1-Trideceno	2437-56-1	MS, IK	1296	1291	-	X	X	
6-Trideceno	24949-38-0	MS, IK	1300	1307	-	X		
Tridecano	629-50-5	MS, IK	1309	1300	-	X	X	X
Tetradecano	629-59-4	MS, IK	1405	1400	Suave	X		
Longifolene	475-20-7	MS, IK	1417	1416	Doce amadeirado	X	X	X
Ciclododecano	294-62-2	MS, IK	1687	1521	-		X	X
Pentadecano	629-62-9	MS, IK	1502	1500	-	X		
<i>ÉTER</i>								
2-pentil-Furano	3777-69-3	MS, IK	995	996	Frutado	X	X	
<i>ÉSTERES</i>								
Acetato de isobutila	116.16	MS	NC	-	Frutado			X
Butanoato de 3-metiletíla	108-64-5	MS, IK	864	856	Doce	X		X
1-Butanoato de 3-metilacetato	123-92-2	MS, IK	889	876	Frutado			X
Acetanoato de pentila	628-63-7	MS, IK	928	928	Frutado			X
Hexanoato de metila	106-70-7	MS, IK	938	936	Frutado	X	X	X
Hexanoato de etila	123-66-0	MS, IK	1005	999	Frutado	X		
Ácido hexanoico	142-62-1	MS, IK	1005	1013	Azedo		X	X
Acetanoato de hexila	142-92-7	MS, IK	1021	1014	Frutado	X		X



Heptanoato de metila	106-73-0	MS, IK	1032	1021	Fruta doce	X		
Octanoato de metila	111-11-5	MS, IK	1134	1128	Erva-doce	X	X	
Benzenoacéticoato de metila	101-41-7	MS, IK	1122	1187	Floral	X		
Hexanoato de hexíla	6378-65-0	MS, IK	1325	1381	Frutado		X	X
Dodecanoato de metíla	111-82-0	MS, IK	1333	1527	Coco	X		X
Tetradecanoato de metila	124-10-7	MS, IK	1728	1710	Pétala	X		
<i>ÁCIDOS GRAXOS</i>								
Ácido octanóico	124-07-2	MS, IK	1195	1191	Óleo rançoso	X	X	
Ácido (Z) - 11- Hexadecenóico	2416-20-8	MS, IK	1868	1915	-		X	
Ácido cis-9-hexadecenoico	373-49-9	MS, IK	1868	1944	-	X	X	X
Ácido palmitoleico	373-49-9	MS, IK	1876	1953	-	X	X	X
Ácido cis-1,3-octadecenóico	13126-39-1	MS, IK	2064	2175	-		X	X

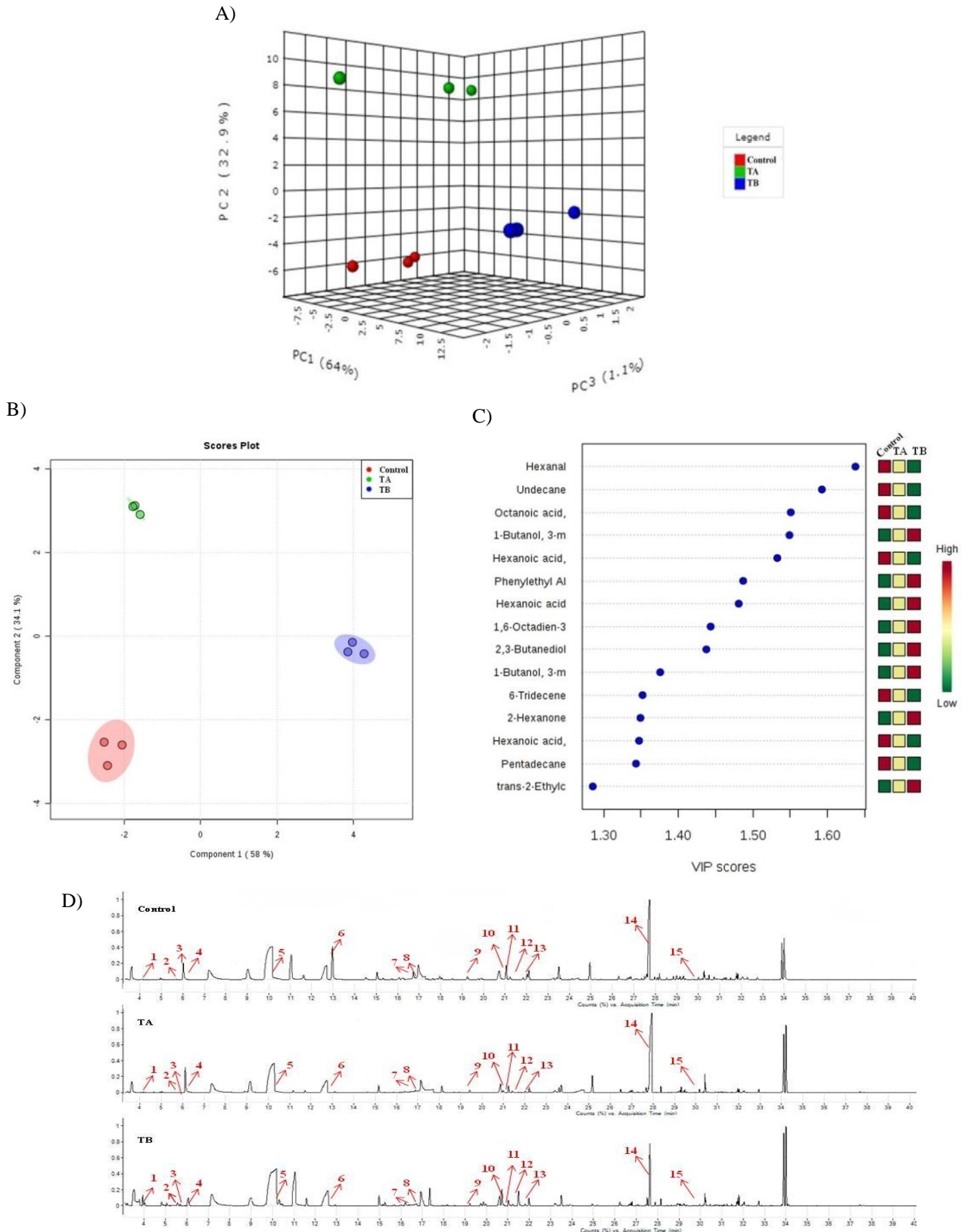
1. Número de registro exclusivo no banco de dados do Chemical Abstracts Service, uma divisão da Chemical American Society. 2.1 Identificação: o MS foi a comparação do mass spectra com o banco de dados do Nist 2.0. 2012 (Instituto Nacional de Normalização e Tecnologia, Gaithersburg, Md, EUA) e / ou IK foi o índice Kovats, de acordo com a literatura. 2.2 Índice de retenção de seus respectivos compostos voláteis, calculado a partir da razão n-alcano (C8-C20) 2.3 Observação de retenção de índice em banco de dados online (Nist chemistry webbook, chemspider e pubchem). 3. Referência: A boa companhia de aromas. O tratamento A (TA), no qual os frutos foram cortados em quartos, as cascas foram removidas manualmente antes de seu processo de polpação, e foram coadas através de peneira de 0,8 milímetros; tratamento B (TB), no qual os frutos inteiros foram utilizados diretamente no processo de despolpamento, na dose de 500 mg / kg de ácido ascórbico, para evitar processos oxidativos, e os frutos foram coados em peneira de 2,5 e 0,8 milímetros; e tratamento C ou controle, o mesmo usado em TB, no entanto, sem adição de ácido ascórbico.

## 5.5 Análise Multivariada CG - MS

O *PCA* 3D representou 98% da variância total ( $R^2X [1] = 64\%$ ;  $R^2X [2] = 32,9\%$  e  $R^2X [3] = 1,1\%$ ). Os dados obtidos foram inicialmente submetidos a uma abordagem *PCA* utilizando a escala de Pareto, conforme mostrado na Figura 11A . Após o *PCA*, o *PLS-DA* (11B) foi realizado para identificar os tratamentos e aglomerados mais semelhantes. Além disso, esses resultados confirmaram os dados obtidos da *PCA*, onde os compostos voláteis foram afetados diferentemente pelo processo empregado.

Além das análises de *PCA* e *PLS-DA*, as variáveis importantes em projeção (*VIP*) foram avaliadas (11C; 11D). A importância variável na projeção (*VIP*) é uma soma ponderada de quadrados do peso *PLS*, e um valor  $> 1$  é geralmente usado como um critério para identificar a importância de uma variável para o modelo. De acordo com a Figura 11C, hexanal, undecano e ácido octanóico foram os compostos voláteis com os maiores valores de discriminação entre os tratamentos, sendo encontrados em maior concentração no tratamento controle. Além disso, o 1-hexanol (derivado do hexanal) é observado em maior concentração na TB, indicando que as reações de degradação são mais intensas no controle do tratamento (ZORZANELLI; MURI, 2015) que reforçam a modificação química de constituintes após a adição do ácido ascórbico.

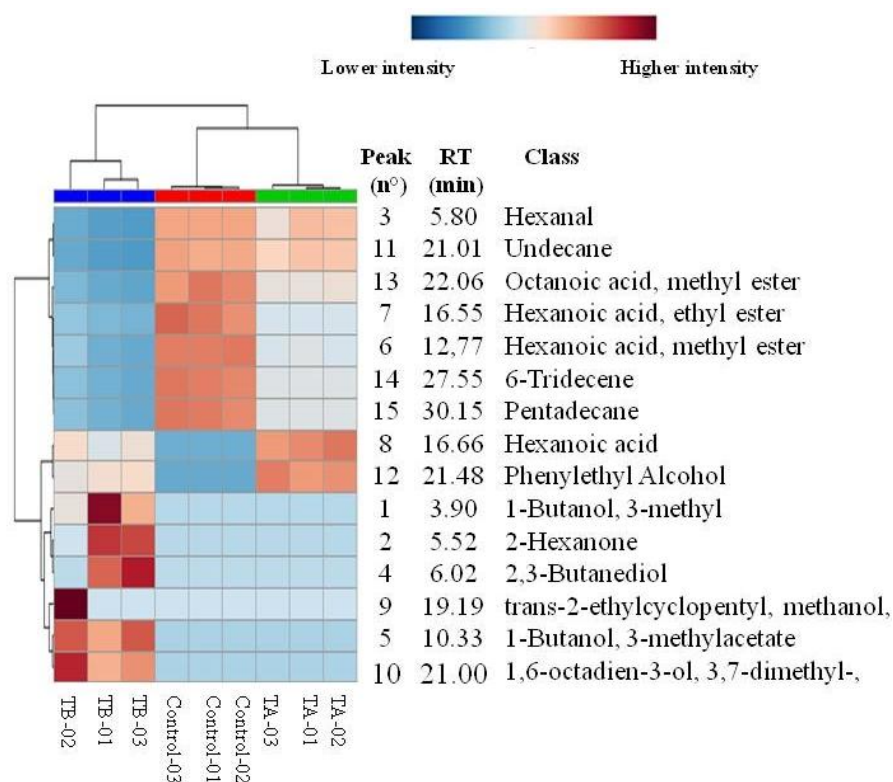
Figura 11. (A) Gráficos de quimiometria da análise do composto principal (*PCA - 3D*), (B) mínimos quadrados parciais (*PLSDA - Scores*), o (C) gráfico de variáveis de importância na projeção (*VIP - Scores*) e (D) cromatograma de os processos com os compostos *VIP* identificados.



1. 1-butanol-3-metil (RT - 3,90), 2. 2-Hexanone (RT - 5,52), 3. Hexanal (RT - 5,8), 4. 2,3-butanediol (RT - 6,02), 5. 1-butanol-3-metilacetato (RT - 10,33), 6. Hexanoato de metila (RT - 12,77), 7. Hexanoato de etila (RT - 16,55), 8. Ácido hexanoico (RT - 16,66), 9. trans-2-etilciclopentil, metanol (RT - 19,19), 10. 3,7-dimetil-1,6-octadien-3-ol, (RT - 21,00), 11. Undecano (RT - 21,01), 12. Álcool fenilico (RT - 21,48), 13. Octanoato de metila (RT - 22,06) 14. 6-trideceno (RT - 27,55), 15. Pentadecano (RT - 30,15).

Devido à grande quantidade de informações obtidas e uma visão geral da variação metabólica de diferentes processos, a análise do *heatmap* foi realizada com os marcadores químicos e os resultados são mostrados na Figura 12. O dendograma 3D (*heatmap*) mostrou que o controle apresenta um maior grau de similaridade com o TA. Assim, o *heatmap* mostra que os metabolitos hexano, undecano, éster metílico do ácido octanóico, éster etílico do ácido hexanóico, éster metílico do ácido hexanóico, 6-trideceno e pentadecano estão em maior intensidade no controle e no TA. A ausência de ácido ascórbico nesses tratamentos pode ser o fator causador da maior degradação desses compostos voláteis. Além disso, o TB apresenta uma intensidade intermediária desses metabolitos. O segundo agrupamento mostra a intensidade do ácido hexanóico e do álcool fenilico na TA e com intensidade intermediária em TB. Em relação ao terceiro grupo, a presença de metabolitos de maior intensidade pertencentes aos álcoois, como o 1-butanol 3-metil, 2,3-butanodiol, trans-2-etilciclopentil, metanol, 1-butanol, 3-metilacetato e 1,6-octadien-3-ol, 3,7-dimetil- e uma cetona. Assim, a análise quimiométrica foi capaz de confirmar a eficácia da adição de ácido ascórbico como um dos responsáveis por retardar as reações de degradação das vias metabólicas em processos relacionados à degradação de compostos voláteis.

Figura 12. *Heatmap* - Análise multivariada dos compostos voláteis do controle, processamento A e B da pitaya vermelha. A cor vermelha mais profunda representa a intensidade relativa mais alta, a cor azul mais profunda a intensidade relativa mais baixa e a intensidade intermediária é uma cor branca.



### 5.6 Análise de Identificação Usando *UPLC-QTOF-MS<sup>E</sup>*

Os extratos etanolicos das 7 amostras (TA, TAC, TAS; TB, TBC, TBS e TC) foram obtidas em quinuplicatas segundo a metodologia de micro-extração descrita anteriormente. As amostras injetadas e analisadas pelo *UPLC-QTOF-MS<sup>E</sup>* foram analisadas em modo positivo de ionização, sendo realizada uma análise comparativa entre as polpas, cascas e sementes oriundas dos três tratamentos (A, B e C) e uma amostra controle. Utilizando os mecanismos de fragmentação e as bases de dados *SciFinder*, *ChemSpider* e *PubChem* foram detectados 35 compostos, como mostrados na tabela 5.

Como o padrão de muitos compostos da pitaya está disponível, a identificação da maioria das moléculas foi facilitada. No entanto, para outras moléculas com fragmentação não disponíveis na literatura ou com informações limitadas, foi realizado um estudo exploratório dos picos de massa obtidos no experimento *MS-MS*. Com isso, todos os compostos foram

identificados considerando os seguintes parâmetros: i) íon molecular (modo positivo), ii) padrão isotópico, iii) exatidão de massa (<5 ppm) e seus respectivos padrões de fragmentação relatados na literatura.

Para identificar corretamente os picos encontrados no cromatograma, foram considerados apenas os dados de referência relacionados à família (Cactaceae), gênero (*Hylocereus*) e espécie (*polyrhizus*). Identificaram-se as moléculas que geraram os íons fragmentos observados no espectro de massas. Sendo identificados 23 compostos e 12 não foram identificados nos processamentos analisados.

As amostras de polpa, casca e semente observadas nos cromatogramas (X) apresentaram particularidades de cada processamento. Em virtude disso, foram atribuídos na tabela 6 a cada metabólito e processamento de pitaya os símbolos (✓) ou (-), que representam a confirmação ou negação da existência daquele composto. Os compostos que não foram caracterizados, são denominados com a sigla N.I. que significa “não identificado”.

No Tratamento A foram detectados compostos que aparecem 42 vezes divididos nas três frações, sendo na polpa (TA) 15 compostos foram detectados e 7 compostos foram identificados por tentativas, na casca (TAC) foram observados 9 compostos (5 foram identificados por tentativas) e na fração rica em sementes (TAS) foram detectados 18 compostos e foram identificados 9 compostos.

No Tratamento B, a frequência dos componentes químicos observados foi 44 vezes dividida em polpa, casca e semente. Em relação à casca (TBC) e à semente (TBS), 5 e 8 compostos foram tentativamente identificados, respectivamente. Observou-se um aumento no número de compostos nas frações ricas em sementes. Isso se deve ao fato de serem frações do processamento da polpa, contendo: polpa, mucilagem e semente. Além disso, foram identificados 11 compostos (16 detectados) na polpa (TA).

No tratamento controle (TC) foram tentativamente identificados 8 compostos (17 detectados). Os resultados podem sugerir que a adição de ácido ascórbico e a mudança no despulpamento podem ser os principais responsáveis pelas diferenças no perfil químico dos tratamentos.

Figura 13. Cromatogramas correspondentes aos tratamentos: (*polpa (TA)*, *casca (TAC)*, *semente (TAS)*, *polpa (TB)*, *casca (TBC)*, *semente (TBS)*) e *polpa controle (TC)*).

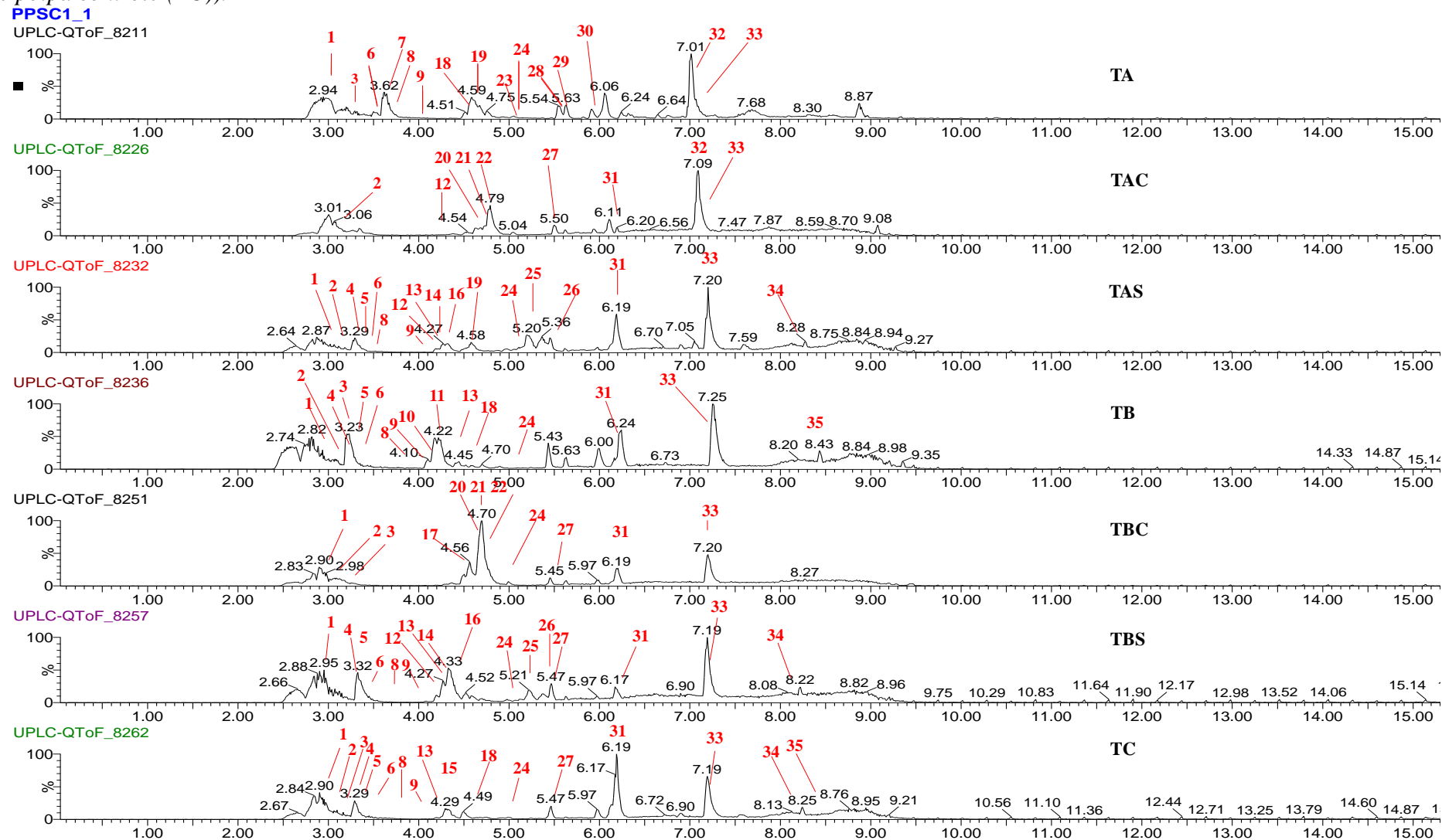


Tabela 5 - Identificação de compostos não voláteis de pitaya [*Hylocereus polyrhizus* (Webber) Britton & Rose] obtidos por UPLC-QTOF-MS<sup>E</sup> em modo positivo.

n°	$T_R$ (min)	Adição	$m/z$ (MS)		Erro (ppm)	Fragmentos (MS <sup>2</sup> Ions)	Formula Molecular	Tentativa de Identificação	Pitaya							Referências
			Observada	Calculada					TA	TAC	TAS	TB	TBC	TBS	TC	
1	2,94	[M+H] <sup>+</sup>	752,8668	-	-	640,8839 526,9092 410,9315 296,9529	-	N.I	✓	-	✓	✓	✓	✓	✓	-
2	3,08	[M+H] <sup>+</sup>	683,1470	683,1460	1,50	551,1607 389,0927	C <sub>29</sub> H <sub>31</sub> O <sub>19</sub> <sup>+</sup>	2'-O-Apiosil- isobetanina	-	✓	✓	✓	✓	-	✓	(WYBRANIEC <i>et al.</i> , 2009; SZOT, 2015)
3	3,18	[M+(K+H <sub>2</sub> O)+H] <sup>+</sup>	399,0892	399,0899	1,75	219,0354	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>	Sacarose	✓	-	-	✓	✓	-	✓	(LOWELL <i>et al.</i> , 1997; HUA <i>et al.</i> , 2018)
4	3,29	M <sup>+</sup>	637,1512	637,1517	-0,78	593,1660 551,1712 389,0885	C <sub>27</sub> H <sub>28</sub> N <sub>2</sub> O <sub>16</sub>	Filocactina	-	-	-	✓	-	-	✓	(WYBRANIEC <i>et al.</i> , 2007, 2010; SUH <i>et al.</i> , 2014; FATHORDOOBADY <i>et al.</i> , 2016)
5	3,32	M <sup>+</sup>	769,1934	769,1956	2,86	637,1586 593,1727 551,1491 389,1055	C <sub>27</sub> H <sub>28</sub> N <sub>2</sub> O <sub>16</sub>	2'-Apiosil- Filocactina isômeros	-	-	✓	✓	-	✓	✓	(FATHORDOOBADY <i>et al.</i> , 2016; WYBRANIEC <i>et al.</i> , 2010, 2007)
6	3,43	[M+K+H] <sup>+</sup>	705,1885	705,1850	4,96	543,1550 381,0830 219,0325	C <sub>19</sub> H <sub>34</sub> O <sub>16</sub>	Maltotetraose	✓	-	✓	✓	-	✓	✓	(DASAESAMOH <i>et al.</i> , 2016; MATROS <i>et al.</i> , 2015)



n°	T <sub>R</sub> (min)	Adição	m/z (MS)		Erro (ppm)	Fragmentos (MS <sup>2</sup> Ions)	Formula Molecular	Tentativa de Identificação	Pitaya							Referências
			Observada	Calculada					TA	TAC	TAS	TB	TBC	TBS	TC	
7	3,62	M <sup>+</sup>	769,1973	769,1956	2,21	637,1537 593,1551 551,1414 389,1078	C <sub>32</sub> H <sub>37</sub> N <sub>2</sub> O <sub>20</sub> <sup>+</sup>	2'-O-Apiosil-4'- O-malonil- betanina isômeros	✓	-	-	-	-	-	-	(WYBRANIEC <i>et al.</i> , 2010).
8	3,86	M <sup>+</sup>	637,1524	637,1517	1,09	551,1416 389,1032	C <sub>27</sub> H <sub>29</sub> N <sub>2</sub> O <sub>16</sub> <sup>+</sup>	4'-O-malonil- betanina isômeros	✓	-	✓	✓	-	✓	✓	(FATHORDOOBADY <i>et al.</i> , 2016; KUMORKIEWICZ; WYBRANIEC, 2017).
9	4,00	M <sup>+</sup>	637, 1510	637,1517	-1,09	551,1468 389,1035	C <sub>27</sub> H <sub>29</sub> N <sub>2</sub> O <sub>16</sub> <sup>+</sup>	Isofilocactina	✓	-	✓	✓	-	✓	-	(FATHORDOOBADY <i>et al.</i> , 2016; KUMORKIEWICZ; WYBRANIEC, 2017; LYSTVAN <i>et al.</i> , 2018).
10	4,10	M <sup>+</sup>	551,1500	551,1508	-1,47	389,0979	C <sub>24</sub> H <sub>26</sub> N <sub>2</sub> O <sub>13</sub>	Betanina	-	-	-	✓	-	-	-	(STINTZING <i>et al.</i> , 2002; WYBRANIEC <i>et al.</i> , 2007, 2010; SUH <i>et al.</i> , 2014).
11	4,18	M <sup>+</sup>	637,1540	637,1517	3,60	593,1646 389,1035	C <sub>27</sub> H <sub>29</sub> N <sub>2</sub> O <sub>16</sub>	4'-O-malonil- isobetanina isômeros	-	-	-	✓	-	-	-	(WYBRANIEC <i>et al.</i> , 2007, 2010; SUH <i>et al.</i> , 2014; FATHORDOOBADY <i>et al.</i> , 2016).
12	4,20	M <sup>+</sup>	551,1516	551,1508	1,45	389,1077	C <sub>24</sub> H <sub>26</sub> N <sub>2</sub> O <sub>13</sub>	Isobetanina	-	✓	✓	-	-	✓	-	(STINTZING <i>et al.</i> , 2002, WYBRANIEC <i>et al.</i> , 2007, 2010).

n°	T <sub>R</sub> (min)	Adição	m/z (MS)		Erro (ppm)	Fragmentos (MS <sup>2</sup> Ions)	Formula Molecular	Tentativa de Identificação	Pitaya							Referências
			Observada	Calculada					TA	TAC	TAS	TB	TBC	TBS	TC	
13	4,25	M <sup>+</sup>	637,1514	637,1517	-0,47	593,1248 551,1199 389,1077	C <sub>27</sub> H <sub>29</sub> N <sub>2</sub> O <sub>16</sub>	Filocactina isômeros	-	-	✓	✓	-	✓	✓	(WYBRANIEC <i>et al.</i> , 2007, 2010; SUH <i>et al.</i> , 2014; FATHORDOOBADY <i>et al.</i> , 2016).
14	4,26	M <sup>+</sup>	769,1963	769,1956	0,91	637,1609 593,1673 551,1498 389,1034	C <sub>32</sub> H <sub>37</sub> N <sub>2</sub> O <sub>20</sub> <sup>+</sup>	2'-O-Apiosil- 4'-O-malonil- betanina isômeros	-	-	✓	-	-	✓	-	(WYBRANIEC <i>et al.</i> , 2010).
15	4,29	M <sup>+</sup>	637,1512	637,1517	-0,78	593,1785 551,1507 389,1024	C <sub>27</sub> H <sub>29</sub> N <sub>2</sub> O <sub>16</sub>	Filocactina isômeros	-	-	-	-	-	-	✓	(WYBRANIEC <i>et al.</i> , 2007, 2010; SUH <i>et al.</i> , 2014; FATHORDOOBADY <i>et al.</i> , 2016).
16	4,34	M <sup>+</sup>	637,1517	637,1517	0	593,1905 551,1329 389,0990	C <sub>27</sub> H <sub>29</sub> N <sub>2</sub> O <sub>16</sub>	Filocactina isômeros	-	-	✓	-	-	✓	-	WYBRANIEC <i>et al.</i> , 2007, 2010; SUH <i>et al.</i> , 2014); FATHORDOOBADY <i>et al.</i> , 2016).

n°	T <sub>R</sub> (min)	Adição	m/z (MS)		Erro (ppm)	Fragmentos (MS <sup>2</sup> Ions)	Formula Molecular	Tentativa de Identificação	Pitaya							Referências	
			Observada	Calculada					TA	TAC	TAS	TB	TBC	TBS	TC		
17	4,50	[M+H] <sup>+</sup>	757,2433	757,2437	-0,52	545,1625	C <sub>48</sub> H <sub>37</sub> O <sub>9</sub>	NI	-	-	-	-	✓	-	-	-	-
18	4,55	[M+H] <sup>+</sup>	771,2342	771,2348	-0,77	625,1844 479,1360 317,0695	C <sub>34</sub> H <sub>42</sub> O <sub>20</sub>	Isoramnetina ramosil ramoside glicosideo	-	-	-	✓	-	-	-	-	(ANTUNES- RICARDO <i>et al.</i> , 2015, 2017).
19	4,59	M <sup>+</sup>	769,1937	769,1940	0,39	637,1596 593,1551 551,1275 389,1094	C <sub>32</sub> H <sub>37</sub> N <sub>2</sub> O <sub>20</sub> <sup>+</sup>	2'-O-Apiosil-4'-O- malonil-betanina isômeros	✓	-	-	-	-	-	-	-	(WYBRANIEC <i>et al.</i> , 2010).
20	4,67	[M+H] <sup>+</sup>	625,1780	625,1769	1,59	479,1226 317,0799	C <sub>28</sub> H <sub>32</sub> O <sub>16</sub>	Isoramnetina glicosil ramnosil isômeros	-	✓	-	-	✓	-	-	-	(ANTUNES- RICARDO <i>et al.</i> , 2017; POLTURAK <i>et al.</i> , 2018).
21	4,72	[M+H] <sup>+</sup>	625,1781	625,1769	1,92	479,1232 317,0782	C <sub>28</sub> H <sub>32</sub> O <sub>16</sub>	Isoramnetina glicosil ramnosil isômeros	-	✓	-	-	✓	-	-	-	(ANTUNES- RICARDO <i>et al.</i> , 2017; POLTURAK <i>et al.</i> , 2018).

n°	T <sub>R</sub> (min)	Adição	m/z (MS)		Erro (ppm)	Fragmentos (MS <sup>2</sup> Ions)	Formula Molecular	Tentativa de Identificação	Pitaya							Referências
			Observada	Calculada					TA	TAC	TAS	TB	TBC	TBS	TC	
22	4,77	[M+H] <sup>+</sup>	625,1755	625,1769	-2,23	479,1182 317,0746	C <sub>28</sub> H <sub>32</sub> O <sub>16</sub>	Isoramnetina glicosil ramnosil isômeros	-	✓	-	-	✓	-	-	(ANTUNES-RICARDO <i>et al.</i> , 2017).
23	5,02	M <sup>+</sup>	637,1552	637,1517	2,04	389,1137	C <sub>27</sub> H <sub>29</sub> N <sub>2</sub> O <sub>16</sub>	Filocactina isômeros	✓	-	-	-	-	-	-	(WYBRANIEC <i>et al.</i> , 2007, 2010; SUH <i>et al.</i> , 2014); FATHORDOOBADY <i>et al.</i> , 2016)
24	5,05	M <sup>+</sup>	960,4382	960,4382	0,00	693,3136 575,4448	C <sub>52</sub> H <sub>66</sub> NO <sub>16</sub>	N.I	✓	-	✓	✓	✓	✓	✓	-
25	5,20	M <sup>+</sup>	805,2481	805,2456	3,10	459,1474 329,1081	C <sub>40</sub> H <sub>41</sub> N <sub>2</sub> O <sub>16</sub>	N.I	-	-	✓	-	-	✓	-	-
26	5,46	[M+H] <sup>+</sup>	985,2885	985,2884	0,10	657,2012 309,0750	C <sub>36</sub> H <sub>57</sub> O <sub>31</sub>	N.I	-	-	✓	-	-	✓	-	-
27	5,49	M <sup>+</sup>	599,4885	599,4887	-0,3	575,5023 271,0658	C <sub>35</sub> H <sub>67</sub> O <sub>7</sub>	N.I	-	✓	-	-	✓	✓	✓	-
28	5,54	M <sup>+</sup>	427,2662	427,2656	-1,4	389,1404 293,1516	C <sub>18</sub> H <sub>39</sub> N <sub>2</sub> O <sub>9</sub>	N.I	✓	-	-	-	-	-	-	-

n°	T <sub>R</sub> (min)	Adição	m/z (MS)		Erro (ppm)	Fragmentos (MS <sup>2</sup> Ions)	Formula Molecular	Tentativa de Identificação	Pitaya							Referências
			Observada	Calculada					TA	TAC	TAS	TB	TBC	TBS	TC	
29	5,62	[M+H] <sup>+</sup>	637,1870	637,1876	-0,9	389,1074	C <sub>27</sub> H <sub>29</sub> N <sub>2</sub> O <sub>16</sub>	Fillocactina isômeros	✓	-	-	-	-	-	-	(WYBRANIEC <i>et al.</i> , 2007, 2010; SUH <i>et al.</i> , 2014); FATHORDOOBADY <i>et al.</i> , 2016)
30	5,92	[M+H] <sup>+</sup>	991,7041	991,7040	0,1	599,5190 575,5063 318,3047	C <sub>65</sub> H <sub>91</sub> N <sub>4</sub> O <sub>4</sub>	N.I	-	✓	-	-	-	-	-	-
31	6,19	[M] <sup>+</sup>	504,3893	504,3900	-1,4	459,3313	C <sub>27</sub> H <sub>54</sub> NO <sub>7</sub>	N.I	-	✓	✓	✓	✓	✓	✓	-
32	7,09	[M+H] <sup>+</sup>	457,2816	457,2870	-1.18	317,2000	C <sub>24</sub> H <sub>41</sub> O <sub>8</sub>	N.I	✓	✓	-	-	-	-	-	-
33	7,20	[M+H] <sup>+</sup>	457,2763	457,2761	0,4	317,2066	C <sub>19</sub> H <sub>41</sub> N <sub>2</sub> O <sub>10</sub>	N.I	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	-
34	8,24	[M+H] <sup>+</sup>	1023,5276	1023,5277	-0,1	805,4380 782,5639	C <sub>51</sub> H <sub>79</sub> N <sub>2</sub> O <sub>19</sub>	N.I	-	-	✓	-	-	✓	✓	-
35	8,43	[M] <sup>+</sup>	1023,5305	1023,5312	-0,07	521,2931 805,4319 521,2913	C <sub>69</sub> H <sub>71</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub>	N.I	-	-	-	✓	-	-	-	-

O composto 2 ( $T_R = 3,08$ ) teve o íon positivo precursor observado em  $m/z$  683,1470  $[M+H]^+$  e foi descrito por Szot, (2015) e Wybraniec *et al.* (2009) como o 2'-*O*-Apiosil-isobetanina. Os cátions oriundos da fragmentação em  $MS^2$  foram os íons betanina ( $C_{24}H_{27}N_2O_{13}^+$ ) em  $m/z$  551,1607 e a betanidina em 389,0979 Da ( $C_{18}H_{17}N_2O_8^+$ ), referentes a perda dos radicais apiosil e da clivagem da unidade de glicose ao nível da ligação *O*-glicosídica (HENAREJOS-ESCUADERO *et al.*, 2018).

O composto 3 ( $T_R = 3,20$ ) foi identificado como sacarose com  $[M+(K+H_2O)^+H]^+$  com  $m/z$  399,0899 açúcar citado por Hua *et al.* (2018); Lowell *et al.* (1997). Além disso, o espectro em  $MS^2$  produziu um fragmento principal em  $m/z$  219,0354, indicando a perda de um monossacarídeo.

Os compostos 4 ( $T_R = 3,28$ ), 11 ( $T_R = 4,18$ ), 13 ( $T_R = 4,25$ ), 15 ( $T_R = 4,29$ ) e 16 ( $T_R = 4,34$ ) e 23 ( $T_R = 5,02$ ) foram tentativamente identificados como isômeros da filocactina ( $C_{27}H_{28}N_2O_{16}$ ) com íons  $[M+H]^+$  em 637,1512 Da; 637,1540 Da; 637,1514 Da; 637,1572 Da e 637,1517 Da. Em relação a  $MS^2$  foram observados três fragmentações dos íons em 593,1613 Da 551,1508 Da e 389,0979 Da que são referentes a duas perdas por descarboxilação e clivagem da unidade de glicose, respectivamente. Como relatado por Wybraniec *et al.* (2007, 2010); Suh *et al.*(2014), Fathordoobady *et al.* (2016).

O composto 5 ( $T_R = 3,32$ ) foi tentativamente identificado de 2'-*O*-apiosil-filocactina em 769.1934 Da. No espectro cromatográfico em  $MS^2$  foram observados os seguintes fragmentos em 637,1586 Da, referente a perda do radical apiosil e, posteriormente, em 593,1727 Da, 551,1491 Da e 389,1055 Da devido as fragmentações já citadas anteriormente (WYBRANIEC *et al.*, 2007, 2010; FATHORDOOBADY *et al.*, 2016).

No composto 6 ( $T_R = 3,43$ ) foi observado no cromatograma o íon  $[M+K+H]^+$  em  $m/z$  705.1885 e as fragmentações em  $MS^2$  foram 543,1550 Da, 381,0830 Da, 219,0325 Da. Indicando a perda de 3 unidades de hexosídeo ( $m/z$  162). A comparação dos dados com os autores Matros *et al.* (2015) e Dasaesamoh *et al.* (2016) confirmaram ser a Maltotetraose.

Os compostos 7, 14 e 19 ( $T_R = 3,62$ ; 4,26 e 4,59, respectivamente) foram tentativamente identificados como isômeros do 2'-*O*-Apiosil-4'-*O*-malonil-betanina,  $[M+]$   $m/z$  769,1973; 769,1963 e 769,1937. Em relação a fragmentação em  $MS^2$  637,1586 Da; 593.1727 Da; 551.1491 Da e 389.1055 Da que se referem respectivamente a perda 132 Da (3 x  $CO_2H$ ) e 44 Da ( $CO_2H$ ). Além disso, ocorreram as perdas já descritas anteriormente referentes ao hexosídeo, respectivamente (162 Da) (WYBRANIEC *et al.*, 2010).

Os compostos 8 ( $T_R = 3,86$ ) e 9 ( $T_R = 4,00$ ) foram relatados na literatura por

Fathordoobady *et al.* (2016) e Kumorkiewicz; Wybraniec, (2017) como isômeros 4'-*O*-malonil-betanina e isofilocactina. Os íons  $[M^+]$  em 637.1524 Da; 637.1510 Da e fragmentação em  $MS^2$   $m/z$  551,1416; 551,1468 (betanina) e 389,1032; 389,1035 (betanina - 162).

Os compostos 10 e 12 ( $T_R = 4,10$  e  $4,20$ , respectivamente) são os isômeros betanina e isobetanina. Estes compostos possuem íon diagnóstico em  $m/z$  551.1508; 551,1516. Além disso, o perfil de fragmentação em  $MS^2$  é  $m/z$  389,0979; 389,1077 referentes a perda da unidade do hexosídio, restando a betanidina (STINTZING *et al.*, 2002, WYBRANIEC *et al.*, 2007, 2010).

O composto 18 ( $T_R = 4,55$ ), foi descrito por Antunes-Ricardo *et al.* (2015, 2017) e tentativamente identificado como Isoramnetina ramosil ramoside glicosídeo. Apresentando o íon  $[M+H]^+$  em  $m/z$  771,2342 e fragmentação em  $MS^2$   $m/z$  625,1844; 479,1360; 317,0695 que são referentes as perdas na molécula de dois íons ramnosil e da unidade de uma unidade de açúcar (162 Da).

Os compostos 20 ( $T_R = 4,67$ ), 21 ( $T_R = 4,72$ ), 22 ( $T_R = 4,77$ ) foram identificados como isômeros do isoramnetina glicosil ramnosil,  $[M+H]^+$  em 625,1780 Da; 625,1781Da; 625,1755 Da, e descritos assim na literatura por Antunes-Ricardo *et al.* (2017) e Polturak *et al.* (2018). Além disso, a fragmentação em  $MS^2$  479,1226 Da; 479,1232 Da; 479,1755 Da (perda de 146 Da) e 317,0799 Da; 317,0782 Da; 317,0746 Da (perda de 162 Da) indicou que a isoramnetina estava ligada a uma molécula de ramnosil e a uma unidade de hexosídio, já relatados anteriormente.

Os compostos 1 ( $T_R = 2,94$ ), 17 ( $T_R = 4,50$ ), 24 ( $T_R = 5,05$ ) 25 ( $T_R = 5,20$ ), 26 ( $T_R = 5,44$ ), 27 ( $T_R = 5,49$ ), 28 ( $T_R = 5,54$ ), 29 ( $T_R = 5,62$ ), 30 ( $T_R = 5,92$ ), 31 ( $T_R = 6,19$ ), 32 ( $T_R = 7,09$ ), 33 ( $T_R = 7,20$ ), 34 ( $T_R = 8,23$ ) e 35 ( $T_R = 8,43$ ) que não foram identificados na literatura.

### 5.7 Análise Multivariada *UPLC-QTOF-MS*<sup>E</sup>

Na análise de componentes principais (*PCA*) (Figura 14A) pode-se observar os diferentes comportamentos dos processos estudados. Confirmando as diferentes composições metabólicas das amostras dos processamentos A e B. O modelo gerado apresentou discriminação das amostras igual a 95% ( $R^2X[1] = 0,4579$  e  $R^2X[2] = 0,222$ ). A polpa (TA) e a casca (TAC) ficaram localizadas na região positiva de PC2, enquanto as sementes (TAS e TBS), a casca (TBC) e a polpa (TA) ficaram na região negativa. Em relação a região positiva de PC1 foram observados a presença das cascas dos dois processamentos (TAC e TBC), enquanto as polpas e as frações ricas em semente localizaram-se na região negativa. Na comparação entre as matrizes dos dois tratamentos representados no gráfico constatou-se que o tipo de despulpamento aplicado no fruto da pitaya conferiu mudanças de quadrantes para a casca e a polpa dos dois processamentos, a adição de 500 mg/Kg de ácido ascórbico a polpa do tratamento B (TB) pode ter sido o responsável por essa modificação.

Na Figura 14B foram analisados os compostos principais especificamente das polpas (TA, TB e TC). O modelo gerado apresentou discriminação das amostras igual a 95% ( $R^2X[1] = 0,5506$  e  $R^2X[2] = 0,2595$ ). Na região positiva de PC1, observou-se a amostra TA e na região negativa amostras TB e TC. Enquanto, na região positiva de PC2 é visualizada apenas a amostra TC, estando às outras polpas (TA e TB) na região negativa. A diferença na posição dos metabolitos dentro do mesmo processamento é um indicativo da diferenciação entre as duas amostras pela adição do acidulante. Além disso, pode ser constatado que a polpa do processamento sem casca na despulpadeira apresentou diferenças qualitativas dos metabolitos da amostra do tratamento B com adição ou sem adição do ácido ascórbico.

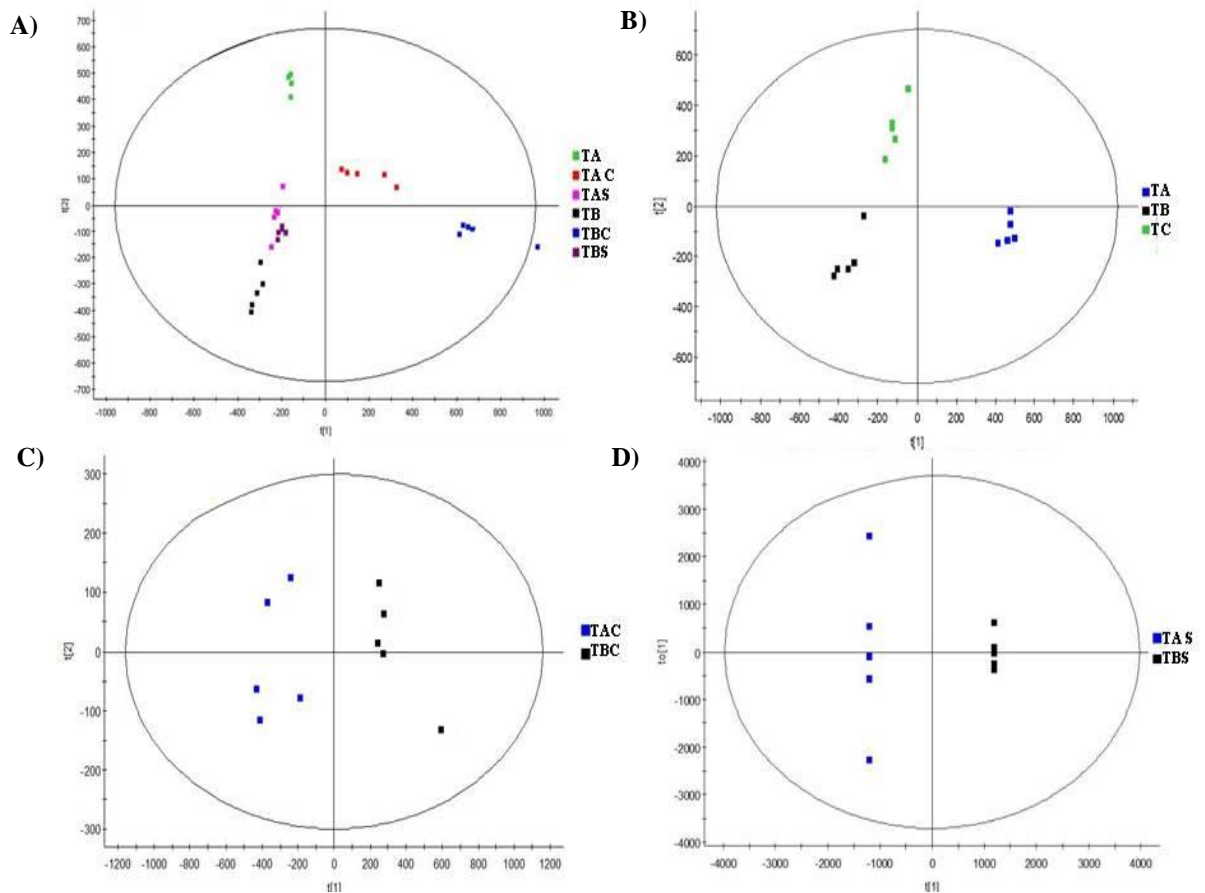
A análise de compostos principais das cascas obtidas nos dois processamentos pode ser analisada na Figura 14C. O modelo gerado apresentou discriminação das amostras igual a 95% ( $R^2X[1] = 0,8234$  e  $R^2X[2] = 0,05477$ ). Em relação a PC1 a casca do processamento B foi observada na região positiva e a polpa do processamento A na região negativa. Também é observado que as sementes (TAS e TBS) na Figura 14D também apresentaram diferentes comportamentos no gráfico. Em relação a PC2 a amostra TBS ficou no eixo negativo e a amostra rica em semente do processamento A no eixo positivo. O modelo gerado apresentou discriminação das amostras igual a 95% ( $R^2X[1] = 0,3996$  e  $R^2X[2] = 0,3334$ ).

A diferença na metaboloma das amostras da casca e semente foi devido aos diferentes processos de despulpamento. No tratamento A, a casca foi retirada manualmente



antes da adição da polpa e semente na despulpadeira e a amostra TBC foi adicionada juntamente com a polpa/sememente na despulpadeira e separada pelo movimento mecânico das pás da despulpadeira. Com isso, a parte interna (endocarpo) foi raspada mecanicamente no tratamento B. Então, qualitativamente as amostras de casca e semente dos diferentes tratamentos em unidade de planta piloto apresentaram diferentes composições químicas, sendo justificado na observação da análise quimiométricas de compostos principais.

Figura 14. Análise compostos principais dos processamentos com pitaya vermelha: A - A x B (TA x TB, x TAC x TBC x TAS x TBS); B- (TA x TB x TC); C - (TAC x TBC); D- (TAS x TBS)



## 5.8 Potenciais Marcadores Químicos

O presente estudo também realizou o estudo quimiométrico através dos modelos *OPLS-DA*, *S-PLOT* e gráficos de barras com os discriminantes das amostras dos dois processamentos estudados. O modelo *OPLS-DA* foi utilizado para comparar as polpas (TA, TB e TC), as cascas (TAC e TBC) e as sementes (TAS e TBS), com o intuito de encontrar os principais marcadores que podem estar relacionados a diferença entre as amostras e os

processamentos. Aliado a isso, os gráficos de dispersão *S-PLOT* e de barras com os marcadores discriminantes foram utilizados. Os metabólitos discriminantes são aqueles que se encontram mais próximos aos extremos do eixo do gráfico e distante do centro e o marcador químico é destacado de vermelho e contém a mesma numeração comparativa no gráfico de barras e na tabela 4.

O modelo gerado pelos gráficos *OPLS-DA* nas Figuras 15 (AI, BI e CI) para as polpas TA, TB e TC apresentaram discriminação das amostras igual a 95% (TA x TB) ( $R^2XCum[1] = 0,8579$ ), 95% (TB x TC) ( $R^2XCum[1] = 0,7252$ ) e 95% (TA x TC) ( $R^2XCum[1] = 0,7987$ ). Esses valores são um indicativo de uma diferença estatística significativa entre as composições metabólicas das amostras analisadas. Os gráficos de *scores* da *OPLS-DA* (Figura 15AI, 15BI e 15CI) indicam que todas as amostras de polpa de pitaya diferenciaram-se, devido a formação de dois agrupamentos em diferentes quadrantes. Indicando a diferença entre os diferentes processamentos.

O gráfico *S-plot* da Figura 15AII, 15BII e 15CII ilustram as variáveis responsáveis pela separação entre os grupos. Na análise do *S-plot* (Figura 15 AII) pode-se observar os marcadores químicos das amostras TB e TA. Os compostos 5 (2'-*O*-apiosil-filocactina), 9 (isofilocactina), 13 (isômeros de filocactina), 33 (não identificado) são os responsáveis pela diferenciação de TB em relação a TA. Enquanto, os componentes 8 (isômeros de 4'-*O*-malonil-betanina) e 32 (não identificados) foram os responsáveis pela diferenciação de TA em relação a TB. Essa diferença de marcadores químicos pode estar relacionada a compostos que são adicionados no tratamento B com o diferente método de despulpamento e da adição de ácido ascórbico.

Na comparação entre as amostras do tratamento B com ácido ascórbico (TB) e sem ácido ascórbico (TC) (Figura 15 BII) pode-se observar a presença de 4 marcadores moleculares, os compostos 4 (isômeros de filocactina), 9 (isofilocactina) e 13 (isômeros de filocactina) os marcadores responsáveis pela discriminação da amostra TB em relação a amostra controle. A amostra controle teve apenas o composto 33 (não identificado) como marcador molecular em relação a polpa com adição de ácido ascórbico (TB).

Também foi realizada a comparação das matrizes no *S-Plot* para as amostras TA e TC, onde foi observada a presença de dois marcadores moleculares presentes em TA: 9 (isofilocactina) e 32 (não identificado) e um marcador com maior quantidade na amostra controle, o 33 (não identificado).

As cascas (TAC e TBC) e as sementes (TAS e TBS) também foram submetidas a comparação matricial, gerando o gráfico *OPLS-DA* que apresentou discriminação das

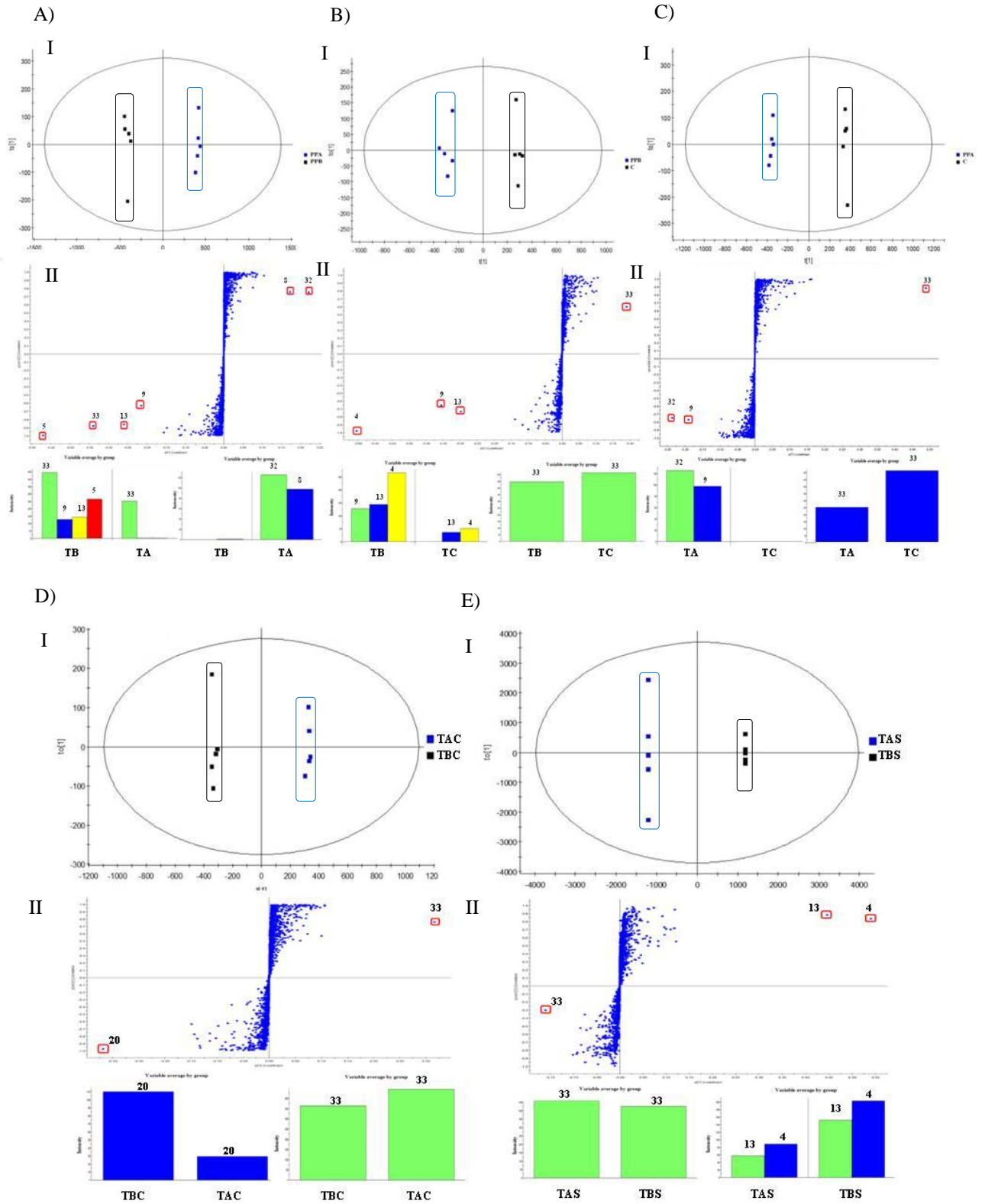
amostras igual a 95% (TAC X TBC) ( $R^2XCum[1] = 0,9019$ ) e 95% (TAS x TBS) ( $R^2XCum[1] = 0,9719$ ). Assim como nas polpas os valores apresentaram boa robustez, garantindo que os dados obtidos contenham segurança estatística.

A análise de *OPLS-DA* justifica as análises anteriores em que é visto claramente uma diferenciação dos grupos metabólitos presentes na casca. Este resultado confirma que a casca retirada manualmente da pitaya e a retirada mecânica em despoldadeira com pás acarretam diferentes perfis químicos. Em relação ao *S-Plot* as cascas apresentaram apenas dois marcadores químicos que foram discriminantes da diferença entre as duas amostras, sendo os compostos 20 (isômeros de isoramnetina) em relação de TBC e TAC, enquanto TAC apresentou o componente 33 (não identificado) em relação a TBC.

Os resultados do *OPLS-DA* para as sementes oriundas dos tratamentos A e B também mostraram uma clara separação em quadrantes diferentes do gráfico em relação a PC1. O resultado é plausível, uma vez que as amostras TAS e TBS são frações ricas de semente em seu conteúdo, mas que possuem ainda uma grande quantidade de polpa aderida a sua mucilagem. Com isso, os compostos das polpas dos tratamentos A e B ficam adsorvidos nas sementes e na sua mucilagem característica.

Os gráficos *S-Plot* e de barras apresentaram um composto discriminante na TAS, o marcador 33 (não identificado), mas em relação aos marcadores TBS foram identificados os compostos 4 e 13 (isômeros de filocactina). Estes resultados estão de acordo com os resultados já mostrados anteriormente sobre as diferenças qualitativas do perfil metabólico das frações ricas em sementes oriundas do processo de despoldamento em planta piloto.

Figura 15. Gráficos das análises de *OPLS-DA* e *SPLIT*. A- TA x TB; B - TBx TC; C - TA x TC; D – TAC x TBC e E - TAS x TBS



## 6 CONCLUSÕES

De acordo com o trabalho realizado e com base nos resultados apresentados e discutidos anteriormente, pode-se concluir que:

- O rendimento da polpa da pitaya TB aumentou em 13% em comparação ao TA;
- O Tratamento B com adição de ácido ascórbico diminuiu a atividade das enzimas polifenoloxidasas e peroxidases presentes na polpa da pitaya em comparação ao tratamento Controle;
- As análises químicas e físico-químicas diferiram nos tratamentos A e B;
- O *GC-MS* e o *UPLC-QTOF-MS<sup>E</sup>* foram confirmados como técnicas analíticas eficientes para a separação e identificação dos compostos voláteis e não voláteis presentes na pitaya;
- A análise quimiométrica distinguiu eficientemente os tratamentos aplicados, e mostrou que o tratamento B apresentou um perfil químico satisfatório, devido à preservação ou formação de novos compostos derivados da betalaína;
- Os dados obtidos nessa pesquisa serão de grande contribuição para aplicações futuras na indústria de alimentos por tratar-se de um estudo amplo sobre a pitaya vermelha em diferentes tratamentos, inédito na literatura.

### 6.1 Perspectivas Futuras

- Obtenção em planta piloto de suco microfiltrado de pitaya vermelha;
- O estabelecimento do perfil metabólico, físico-químico, microbiológico, sensorial, de compostos voláteis e não voláteis de suco clarificado e integral de pitaya e suco clarificado de pitaya com caju;
- A descrição das análises de monitoramento da estabilidade do perfil metabólico, físico-químico, microbiológico, sensorial e de compostos voláteis e não voláteis dos sucos durante o período de armazenamento;
- Isolamento e purificação de oligossacarídeos;
- Atividade biológica das frações polpa, casca e semente nos diferentes tratamentos empregados;

## REFERÊNCIAS

- ABDELNUR, P. V. Metabolômica e Espectrometria de Massas. **Circular técnico - Embrapa**, p. 2177-44201, 2011.
- ABREU, W. C. LOPES, C. D. O. PINTO, K. M. OLIVEIRA, L. A. CARVALHO, G. B.M. D. BARCELO, M. D. F. P. Características físico-químicas e atividade antioxidante total de pitayas vermelha e branca. **Revista do Instituto Adolfo Lutz** (Impresso), São Paulo, v. 71, n. 4, p. 656-661, 2012.
- AYDEMIR, T. Partial purification and characterization of polyphenol oxidase from artichoke (*Cynara scolymus l.*) heads. **Food Chemistry**, v. 87, n. 1, p. 59-67, 2004.
- ANKOM. Technology method 2: rapid determination of oil/fat utilizing high temperature solvent extraction. **Macedon**. p. 2. 2009.
- ANTUNES-RICARDO, M. GUTIÉRREZ-URIBE, J. A. MARTÍNEZ-VITELA, C. SERNA-SALDÍVAR, S. O. Topical Anti-Inflammatory Effects of Isorhamnetin Glycosides Isolated from *Opuntia ficus-indica*. **Biomed Research international**, v. 2015, 2015.
- ANTUNES-RICARDO, M., GUTIÉRREZ-URIBE, J.A., GUAJARDO-FLORES, D., Extraction of isorhamnetin conjugates from *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill using supercritical fluids. **Journal Supercritical Fluids**, v. 119, p. 45512 58 - 63.2017
- ARAÚJO, J. M. A. **Química de Alimentos: teoria e prática**. 5 ed. Viçosa: UFV, 2011. 601p.
- ARIFFIN, A. A.; BAKAR, J.; TAN, C. P.; RAHMAN, R. A.; KARIM, R.; LOI, C. C. Essential fatty acids of pitaya (dragon fruit) seed oil. **Food Chemistry**, London, v. 114, n. 2, p. 561-564, 2009.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Official methods of analysis**. 18 ed. Gaithersburg, Maryland, 2005.
- BARQUERO, M. E. G.; MADRIGAL, O. Q. Análisis del comportamiento de mercado de la pitahaya (*Hylocereus undatus*) en Costa Rica. **Tecnología en Marcha**, Cartago, v. 23, n. 2, p. 14-24, 2010.
- BOUSLIMANI, A. SANCHEZ, L. M. GARG, N. DORRESTEIN, P. C. Mass spectrometry of natural products: current, emerging and future technologies. **Natural Product Reports**, v. 31, p. 718-29, 2014.
- BRITTON, N. L., ROSE, J. N. The Cactaceae: Descriptions and illustrations of plants of the Cactus family. **Dover publications**: New York, USA, 1963.
- CANTO, A.R. **El cultivo de pitahaya en Yucatán**. Yucatán: Universidad Autónoma de Chapingo, p. 53, 1993.
- CANUTO, G. A. B. DA COSTA, J. L. DA CRUZ, P. L. R. DE SOUZA, . A. R. L. FACCIOLA,

A. T. KLASSENC, A. RODRIGUESA, K. T. TAVARES, M. F. M. Metabolômica: definições, estado-da-arte e aplicações representativas. **Química Nova**, v. 41, n. 1, p. 75-91, 2018.

CARTER, E. C. POINTER, M. R. OHNO, Y. ROBERTSON, A. R. SEVE, R. SCHANDA, J. D. WITT (EDS.), K. Colorimetry - technical report. **Commission Internationale De L'eclairage**, Vienna, Austria, 2004.

CÉLIS, C. Q. GIL, D. E. PINO, J. A. Characterization of odor-active compounds in yellow pitaya (*Hylocereus megalanthus* (Haw.) Britton et Rose). **Journal Chemical Sciences**, v. 43, p. 1-6, 2012.

CORDEIRO, M. H. M. SILVA, J. M. D. MIZOBUTSI, G. P. MIZOBUTSI, E. H. MOTA, W. F. D. Physical, chemical and nutritional characterization of pink pitaya of red pulp. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 37, n. 1, p. 20-26, 2015.

CHESTOFBOOKS. **The Pitaya (*Hylocereus*, *Lemaireocereus*, and *Cereus*)**. Disponível em: <http://chestofbooks.com/gardening-horticulture/fruit/Tropical-And-Subtropical-Fruits/The-Pitaya-Fig-61-Hylocereus-Lemaireocereus-And-Cereus.html>. Acesso em: 11 dez. 2017.

CHITARRA, M. I. CHITARRA, A.B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**. Lavras: ESAL/FAEPE. 535 p. 2005.

CLIFFORD, T. HOWATSON, G. WEST, D. J. STEVENSON, E.J. The potential benefits of red beetroot supplementation in health and disease. **Nutrients**, v.7, p. 2801-2822, 2015.

CHRISTINET, L. BURDET, F.R.X. ZAIKO, M. HINZ, U. ZRYD, J.P. Characterization and functional identification of a novel plant 4,5- extradiol dioxygenase involved in betalain pigment biosynthesis in *Portulaca grandiflora*. **Plant Physiology**, v. 134, p. 265-274, 2004.

DARMSTADT, G. L. MAO-QIANG, M. CHI, E. SAHA, VA ZIBOH, S. K. PRETO, R. E. SANTOSHAM, M. ELIAS, P. M. Impact of tropical oils on the skin barrier: possible implications for neonatal health in developing countries. **Acta paediatrica**, v. 91, p. 546-554, 2002.

DASAESAMOH, R. YOURAVONG, W. WICHIENTHOT, S. Digestibility, fecal fermentation and anti-cancer of dragon fruit oligosaccharides. **International Food Research Journal**, v. 23, p. 2581-2587, 2016.

DELIA, B. RODRIGUEZ-AMAYA, A. Betalains. **Encyclopedia of Food Chemistry**, v. 1, p. 35-39, 2019.

DE VOS, R. C. H. MOCO, S. LOMMEN, A. KEURENTJES, J. J. B. BINO, R. J. HALL, R. D. Untargeted large-scale plant metabolomics using liquid chromatography coupled to mass spectrometry. **Nature Protocols**, v. 2, p. 778-791, 2007.

DONADIO, L. C. Pitaya. **Revista Brasileira de fruticultura**, v. 31, n. 3, p. 637-929, 2009.

DUDLEY, E. YOUSEF, M. WANG, Y. GRIFFITHS, W. J. Targeted metabolomics and mass

spectrometry. **Advances in Protein Chemistry and Structural Biology**, Amsterdam, v. 80, p. 45 - 83, 2010.

ECHEVERRI, A. C. **El cultivo de la pitaya. Instituto de los Recursos Naturales Renovables y del Ambiente**. Bogotá, Colombia. 19 p. 1990.

ESATBEYOGLU, T., WAGNER, A.E., SCHINI-KERTH, V.B. RIMBACH, G. Betanin a food colorant with biological activity. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 59, p. 36-47, 2015.

ESQUIVEL, P. STINTZING, F. C. CARLE, R. Phenolic compound profiles and their corresponding antioxidant capacity of purple pitaya (*Hylocereus sp.*) Genotypes. **Zeitschrift für Naturforschung**, v. 62, n. 9/10, p. 636-644, 2007.

FATHORDOOBADY, F. MIRHOSSEINI, H. SELAMAT, J. MANAP, M. Y. A., Effect of solvent type and ratio on betacyanins and antioxidant activity of extracts from *Hylocereus polyrhizus* flesh and peel by supercritical fluid extraction and solvent extraction. **Food Chemistry**, v. 202, p. 70-80, 2016.

FUNARI, C. S. GAMBOA, I. C. CAVALHEIRO, A. J. BOLZANI, V. DA S. Metabolômica, uma abordagem otimizada para exploração da biodiversidade brasileira: estado da arte, perspectivas e desafios. **Química Nova**, v. 36, n. 10, p. 1605-1609, 2013.

GANDIA-HERRERO, F. ESCRIBANO, J. GARCIA-CARMONA, F. Biological activities of plant pigments betalains. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 56, p. 937-945, 2016.

GENGATHARAN, A., DYKES, G.A. CHOO, W.S. Betalains: natural plant pigments with potential application in functional foods. **Lwt - Food Science Technology**, v. 64, p. 645-649, 2015.

GIROD, P. A. ZRYD, J. P. Biogenesis of betalains—purification and partial characterization of dopa 4,5-dioxygenase from *amanitamuscaria*. **Phytochemistry**, v. 30, p. 169-174, 1991.

GROTEWOLD, E. The genetics and biochemistry of floral pigments. **Annual Review of Plant Biology**, v. 57, p. 761-780, 2006.

HARTMAN, L. LAGO, R. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. **Laboratory Practice**, v. 22, p. 475- 476, 1973.

HENAREJOS-ESCUADERO, P. GUADARRAMA-FLORES, B. GUERRERO-RUBIO, M. A. GÓMEZ-PANDO, L. R. GARCÍA-CARMONA, F. GANDÍA-HERRERO, F. Development of Betalain Journal Producing Callus Lines from Colored Quinoa Varieties (*Chenopodium quinoa Willd*). **Agricultural Food Chemistry**, v. 66, v. 467-474, 2018.

HERBACH, K. M. STINTZING, F. C. CARLE, R. Structural and chromatic stability of purple pitaya (*Hylocereus polyrhizus* [Weber] Britton & Rose) betacyanins as affected by the juice matrix and selected additives. **Food Research International**, v. 39, p. 667-677, 2006.



HERRMANN, K. M. The shikimate pathway early steps in the biosynthesis of aromatic compounds. **Plant Cell**, v. 7, p. 907-919, 1995.

HOLANDA, M. L. **Potencial terapêutico da polpa com semente da pitaiá vermelha [*Hylocereus polyrhizus* (weber) britton & rose] em modelo experimental de dislipidemia induzida por dieta hiperlipídica.** Dissertação (mestrado apresentado ao programa acadêmico em nutrição e saúde). Universidade Federal do Ceará. 85 páginas, 2019.

HUA, Q. CHEN, C. TEL ZUR, N. WANG, H. WU, J. CHEN, J. ZHANG, Z., ZHAO, J. HU, G. QIN, Y. Metabolomic characterization of pitaya fruit from three red-skinned cultivars with different pulp colors. **Plant Physiology Biochemistry**, v. 126, p. 117-125, 2018.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ (IAL) - Normas Analíticas; métodos químicos e físicos para a análise de alimentos. 4 ed. São Paulo: **Instituto Adolfo Lutz**, 2008.

IOANNOU, I.; GHOUL, M. Prevention of enzymatic browning in fruit and vegetables. **European Scientific Journal**, v.9, n.30, p. 310-341, 2013.

JUNQUEIRA, K. P.; FALEIRO, F. G.; BELLON, G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; FONSECA, K. G.; LIMA, C. A.; SANTOS, E. C. Variabilidade genética de acessos de pitaya com diferentes níveis de produção por meio de marcadores RAPD1. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 32, n. 3, p. 840-846, 2010.

KAMAIRUDIN, N. ABD GANI, S. S. MASOUMI, H. R. F. HASHIM, P. Optimization of the formulation of natural lipsticks based on pitaya seed oil (*Hylocereus polyrhizus*) using experimental design of D-Ideal blend. **Molecules**, v. 19, p. 16672-16683, 2014.

KIND, T. FIEHN, O. Seven Golden Rules for heuristic filtering of molecular formulas obtained by accurate mass spectrometry. **BMC Bioinformatics**, v. 8, p. 105, 2007.

KIND, T. FIEHN, O. Advances in structure elucidation of small molecules using mass spectrometry. **Bioanalytical Reviews**, v. 2 (1-4), p. 23 – 60, 2010.

KHAKIMOV, B. GÜRDENIZ, G. ENGELSEN, S.B. Trends in the application of chemometrics to foodomics studies. **Acta Alimentaria**, v. 44, p. 4-31, 2015.

KHALILI, M. A. R., CHE, ABDULLAH, A.B. AND ABDUL MANAF, A. Determination of Antibacterial Activity of Methanol, DMS, Hexane and Ethyl Acetate Extracts of Red Pitaya, White Pitaya and Papaya. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 4, n. 3, p. 185-190, 2012.

KHALILI M, A. R. CHE ABDULLAH, A. B. AND ABDUL MANAF, A. Isolation and characterization of the composition of oligosaccharides in red pitaya organically created, pitaya white and papaya. **International Review of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 6, n. 2, p. 131-136, 2014.

KHAN, M. I. Stabilization of betalains: a review. **Food Chemistry**, v. 197, p. 1280-1285, 2016.

KUMORKIEWICZ, A. WYBRANIEC, S. Fruit flesh betacyanin pigments in *Hylocereus cacti*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 65, p. 7500-7508, 2017.

KUNNIKA, S. PRANEE, A. Influence of enzyme treatment on bioactive compounds and colour stability of betacyanin in flesh and peel of red dragon fruit *Hylocereus polyrhizus* (Weber) Britton and Rose. **International Food Research Journal**, v.18, n.4, p.1437-1448, 2011.

LEONG, H.Y. OOI, C. W. LAW, C. L. JULKIFLE, A. L. PANE, G. T. SHOW, P. L. Investigation of betacyanins stability from peel and flesh of red-purple pitaya with food additives supplementation and pH treatments. **LWT - Food Science and Technology**, v. 98, p. 546-558, 2018.

LIAOTRAKOON, W. CLERCQ, N. HOED, V. V. DEWETTINCK, K. Dragon fruit (*Hylocereus spp.*) seed oils: their characterization and stability under storage conditions. **Journal of American Oil Chemists' Society**, v. 90, p. 207-215, 2013.

LIM, H. K. TAN, C. P. KARIM, R. ARIFFIN, A. A. BAKAR, J. Chemical composition and DSC thermal properties of two species of *Hylocereus cacti* seed oil: *Hylocereus undatus* and *Hylocereus polyrhizus*. **Food Chemistry**, London, v. 119, n. 4, p. 1326-1331, 2010.

LIN, S. YANG, Z. SHEN, Y. CAI, Z. LC/MS-based non-targeted metabolomics for the investigation of general toxicity of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in C57BL/6J and DBA/2J mice. **International Journal of Mass Spectrometry**, Amsterdam, v. 301, p. 29-36, 2011.

LOWELL, C. A.; TOMLINSON, P. T.; KOCH, K. E.; WU, M. C.; CHEN, C. S (1997). Variation of Sugar Content in Various Parts of Pitaya Fruit. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**, 110, 225–227.

LUZ, L. DOS R. PORTO, D. D. CASTRO, C. B. SILVA, M. F. S. FILHO, E. DE G. A. F. CANUTO, K. M. DE BRITO, E. S. BECKER, H. PESSOA, C. DO Ó. ZOCOLO, G. J. Metabolomic profile of *Schinopsis brasiliensis* via UPLC-QTOF-MS for identification of biomarkers and evaluation of its cytotoxic potential. **Journal of Chromatography B, Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, 1099, 97-109, 2018.

MADSEN, R. LUNDSTEDT, T. TRYGG, J. Chemometrics in metabolomics-A review in human disease diagnosis, **Analytica Chimica Acta**, v. 659, p. 23-33, 2010.

MARASCHIN, M. ZEGGIO, A. R. S. TOMAZZOLI, M. M. OLIVEIRA, S. K. RAMLOV, F. VELEIRINHO, M. B. ROCHA, M. Metabolômica e quimiometria como ferramentas para análises quimio(bio) diversas. **Biotecnologia Aplicada à Agro&Indústria**, v. 4, p. 17-50, 2017.

MATROS, A. PESHEV, D. PEUKERT, M. MOCK, H. P. VAN DEN ENDE, W. Sugars as hydroxyl radical scavengers: Proof-of-concept by studying the fate of sucralose in *Arabidopsis*. **Plant Journal**, v. 82, p. 822-839, 2015.

MATSUNO, H. URITANI, I. Physiological behavior of peroxidase isozymes in sweet potato root tissue injured by cutting or with black rot. **Plant and Cell Physiology, Kyoto**, v.13, p. 1091-1101, 1972.

MIZRAHI, Y. Vine-cacti pitayas - the new crops of the world. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n.1, 2014.

MOCO, S., VERVOORT, J., BINO, R. J., DE VOS, R. C. H., & BINO, R.. Metabolomics technologies and metabolite identification. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, 26(9), 855–866. 2007.

MONTEIRO, C. S. BALBI, M. E. MIGUEL, O. G.; PENTEADO, P. T. P. S. HARACEMIV, S. M. C. Qualidade nutricional e antioxidante do tomate “Tipo Italiano”. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 19, n. 1, p. 25-31, 2008.

NUNES, E. N. DE SOUSA, A. S. B. DE LUCENA, C. M. SILVA, S. DE MELO. DE LUCENA, R. F. P. ALVES, C. A. B. ALVES, R. E. Pitaya (*Hylocereus sp.*) Uma revisão para o Brasil. **Gaia Scientia**, v. 8 (1), p. 90 – 98, 2014.

OBENLAND, D. CANTWELL, M. LOBO, R. COLLIN, S. SIEVERT, J. ARPAIA, M. L. Impact of storage conditions and variety on quality attributes and aroma volatiles of pitahaya (*Hylocereus spp.*). **Scientia Horticulturae**, v. 199, p. 15-22, 2016.

OLIVER, S. G. WINSON, M. K. KELL, D. B. BAGANZ, F. Systematic functional analysis of the yeast genome. **Trends in Biotechnology**, v.16, p. 373-378, 1998.

ORTIZ-HERNÁNDEZ, Y.D. CARRILLO-SALAZAR, J.A. Pitahaya (*Hylocereus spp.*): a short review. **Comunicata Scientiae**, Teresina, v. 3, n. 4, p. 220 - 237, 2012.

PARK, E. CHUN, M. Wound healing activity of *Opuntia ficus-indica*. **Fitoterapia**, v.72 p. 165-167, 2007.

PRIATINI, S. PRADITA, A. Stability Study betacyanin extract from red dragon fruit (*Hylocereus Polyrhizus*) peels. **Procedia Chemistry**, v. 16, p 438-444, 2015.

POLTURAK, G. AHARONI, A. “*La Vie en Rose*”: Biosynthesis, Sources, and Applications of Betalain Pigments. **Molecular Plant**, v. 11, ed. 1, p. 7-22, 2018.

POLTURAK, G. HEINIG, U. GROSSMAN, N. BATTAT, M. LESHKOWITZ, D. MALITSKY, S. ROGACHEV, I. AHARONI, A. Transcriptome and Metabolic Profiling Provides Insights into Betalain Biosynthesis and Evolution in *Mirabilis jalapa*. **Molecule Plant**, v. 11, p. 189-204, 2018.

QUEIROZ, C. LOPES, M. L. M.; FIALHO, E. VALENTE-MESQUITA, V. L. Polyphenol oxidase: Characteristics and mechanisms of browning control. **Food Reviews International**, v. 24, n. 4, p. 361-375, 2008.

ROBINSON, D. S. **Food Biochemistry & Nutricional Value**, Longman Scientific & Techhinal, Essex, 1987.

ROCCHETTI, G. LUCINI, L. GALLO, A. MASOERO, F. TREVISAN, M. GIUBERTI, G. Untargeted metabolomics reveals differences in chemical fingerprints between PDO and non - PDO Grana Padano cheeses. **Food Research International**. v. 113, p. 407-413, 2018.

ROSENTRITT, M. ESCH, J. BEHR, M. LEIBROCK, A. HANDEL, G. In vivo color stability of resin composite veneers and acrylic resin teeth in removable partial dentures. **Quintessence International**, v. 29, n. 8, p. 517-522, 1998.

ROCCHETTI, G. LUCINI, L. GALLO, A. MASOERO, F. TREVISAN, M. GIUBERTI, G. Untargeted metabolomics reveals differences in chemical fingerprints between PDO and non - PDO Grana Padano cheeses. **Food Research International**. v. 113, p. 407-413, 2018.

SANDRA, M. L. **Perfil metabolômico e efeito terapêutico da pitaya *hylocereus polyrhizus* (britton & rose) no diabetes e na ansiedade em modelo animal**. Tese. (doutorado apresentado ao programa de Pós-graduação em Biotecnologia). Universidade Estadual do Ceará – Renorbio. 133p, 2019.

SARMENTO, J. D. A. **Qualidade, compostos biotativos e conservação da pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) no semiárido Brasileiro**. Tese (Doutorado apresentado ao programa de pós graduação em Fitotecnia). Universidade Federal Rural do Semi- árido. 145p, 2017.

SATO, S. T. A. RIBEIRO, S. D. C. A. SATO, M. K. SOUZA, J. N. S. Caracterização física e físico-química de pitayas vermelhas (*Hylocereus costaricensis*) produzidas em três municípios paraenses. **Journal of Bioenergy and Food Science**, v.1, n. 2, p. 46-56, 2014.

SCHWAB, W. DAVIDOVICH-RIKANATI, R. AND LEWINSOHN, E. Biosynthesis of plant-derived flavor compounds. **Plant Journal**, v. 54, p. 712-7321, 2008.

SIKORA, M. S WIECA, M. Effect of ascorbic acid postharvest treatment on enzymatic browning, phenolics and antioxidant capacity of stored mung bean sprouts. **Food Chemistry** v. 239, p.1160-1166, 2018.

SOJO, M. M. NUNEZ-DELICADO, E. GARCIA-CARMONA, F. SANCHEZ-FERRER. Monophenolase activity of latent banana pulp polyphenol oxidase. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v. 46, p. 4931-4936. 1998.

SOLANO, J. P. L.; CANO, M. E. A.; HERNÁNDEZ, R. G. Diversidad genética en pitahaya (*Hylocereus undatus* Haworth. Britton y Rose). **Revista Fitotecnia Mexicana**, Chapingo, v. 28, n. 3, p. 179 -185, 2005.

STEGLICH, W. STRACK, D. Betalains. **The alkaloids: Chemistry Pharmacology**, v. 39, p. 1-62, 1990.

STINTZING, F. C. SCHIEBER, A. CARLE, R. Betacyanins in fruits from red-purple pitaya, *Hylocereus polyrhizus* (Weber) Britton & Rose. **Food Chemistry**, v. 77, p. 101-106, 2002.

STINTZING, F. C. CARLE, R. Functional properties of anthocyanins and betalains in plants, food, and in human nutrition. **Trends Food Science Technology**, v. 15, p. 19-38, 2004.

STINTZING, F. C. CARLE, R. Cactus stems (*Opuntia spp.*): A review on their chemistry, technology, and uses. **Molecular Nutritional Food Research**, v. 49 p. 175-194, 2005.

STINTZING, F. C. CARLE, R. Betalains - emerging prospects for food scientists. **Trends Food Science Technology**, v. 18, p. 514-525, 2007.

STRACK, D. VOGT, T. SCHLIEMANN, W. Recent advances in betalain research. **Phytochemistry**, v. 62. p. 247-269, 2003.

SUH, D. H. LEE, S. HEO, D. Y. KIM, Y. S. CHO, S. K. LEE, S. LEE, C. H. Metabolite profiling of red and white pitayas (*Hylocereus polyrhizus* and *Hylocereus undatus*) for comparing betalain biosynthesis and antioxidant activity. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, p. 8764-8771, 2014.

SUSSULINI, A. Metabolomics: From Fundamentals to Clinical Applications. **Cham: Springer**, v. 965. 2017.

THIRUGNANASAMBANDHAM, K. SIVAKUMAR, S. Microwave assisted extraction process of betalain from dragon fruit and its antioxidant activities. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, v. 16, p. 41-48, 2017.

TOIVONEN, P.M.A. BRUMMELL, D.A. Biochemical bases of appearance and texture changes in fresh-cut fruit and vegetables. **Postharvest Biology and Technology**, v. 48, n.1, p.1-14, 2008.

TRIVEDI, D. K. JONES, H. SHAH, A. ILES, R. K. Development of Zwitterionic Hydrophilic Liquid Chromatography (ZIC®HILIC-MS) Metabolomics Method for Shotgun Analysis of Human Urine. **Journal Chromatography Separation Techniques**, v. 3, p. 144, 2012.

TZIN, V. GALILI, G. The biosynthetic pathways for shikimate and aromatic amino acids in *Arabidopsis thaliana*. **Arabidopsis Book**, v. 8:e0132, 2010.

VALENTE, L. M. M. DJAVAN, DA P. DO NASCIMENTO, A. C. DOS SANTOS, P. F. P. SCHEINVAR, L. A. MOURA, M. R. L. TINOCO, L. W. GOMES, L. N. F. GOMES, DA SILVA, J. F. M. Antiradical activity, nutritional potential and flavonoids of the cladodes of *Opuntia monacantha* (Cactaceae). **Food Chemistry**, v. 123, p. 1127-1131, 2010.

WISSEMANN, K.W., LEE, C.Y. Polyphenoloxidase activity during grape maturation and wine production. **American Journal of Enology and Viticulture, Davis**, v. 31, n. 3, p. 206 - 211, 1980.

WYBRANIEC, S. PLATZNER, I. GERESH, S. GOTTLIEB, H. E. HAIMBERG, M. MOGILNITZKI, M. MIZRAHI, Y. Betacyanins from Vine Cactus *Hylocereus Polyrhizus*.

**Phytochemistry**, v. 58, p. 1209-1212, 2001.

WYBRANIEC, S. MIZRAHI, Y. Fruit flesh betacyanin pigments in *Hylocereus cacti*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 6086-6089, 2002.

WYBRANIEC, S; NOWAK-WYDRA, B; MITKA, K; KOWALSKI P; MIZRAHI Y. Minor betalains in fruits of *Hylocereus* species. **Phytochemistry**, 68, 251- 259, 2007.

WYBRANIEC, S. STALICA, P. JERZ, G. KLOSE, B. GEBERS, N. WINTERHALTER, P. SPÓRNA, A. SZALENIEC, M. MIZRAHI, Y. Separation of polar betalain pigments from cacti fruits of *Hylocereus polyrhizus* by ion-pair high-speed countercurrent chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, p. 6890-6899, 2009.

WYBRANIEC, S. STALICA, P. SPÓRNA, A. MIZRAHI, Y. Profiles of Betacyanins in Epidermal Layers of Grafted and Light-Stressed Cacti Studied by LC-DAD-ESI-MS/MS. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, p. 5347-5354, 2010.

WYBRANIEC, S. STALICA, P. SPÓRNA, A. NEMZER, B. PIETRZKOWSKI, Z. MICHAŁOWSKI, T. Antioxidant Activity of Betanidin: Electrochemical Study in Aqueous Media. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 22, p.12163-12170, 2011.

XIA, J. SINELNIKOV, I.V. HAN, B. WISHART, D. A. MetaboAnalist 3.0 – making metabolomics more meaningful. **Nucleic Acids Research**, v. 43, p. 251-257, 2015.

YULIANA, N. D. JAHANGIR, M. VERPOORTE, R. CHOI, Y. H. Metabolomics for the rapid dereplication of bioactive compounds from natural sources. **Phytochemistry Reviews**, v. 12, p. 293-304, 2013.

ZAINOLDIN, K. H. BABA, A. S. The effect of *Hylocereus polyrhizus* and *Hylocereus undatus* on physicochemical, proteolysis, and antioxidant activity in yogurt. **World Academy of Science, Engineering and Technology**, v. 60, n. 35, p. 361-366, 2009.

ZORZANELLI, B. C. MURI, E. M. F. Oxidação de alcoóis em química verde. **Revista virtual química**, v.7 (2), p. 663-683, 2015. Data do acesso: 21/01/2019.