



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

**ANA CAROLINA VIANA DE LIMA**

**CORANTE DE PITAIA VERMELHO-PÚRPURA NATURAL: PERFIL**  
**METABOLÔMICO, ASPECTOS TECNOLÓGICOS E APLICAÇÃO EM**  
**ALIMENTOS**

**FORTALEZA**  
**2020**

ANA CAROLINA VIANA DE LIMA

CORANTE DE PITAIA VERMELHO-PÚRPURA NATURAL: PERFIL METABOLÔMICO,  
ASPECTOS TECNOLÓGICOS E APLICAÇÃO EM ALIMENTOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Área de concentração: Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dra. Maria do Carmo Passos Rodrigues.

Coorientadora: Dr<sup>ª</sup>. Ana Paula Dionísio.

FORTALEZA

2020

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)

---

- L696c Lima, Ana Carolina Viana de.  
Corante de pitaiá vermelho-púrpura natural: perfil metabolômico, aspectos tecnológicos e aplicação em alimentos / Ana Carolina Viana de Lima. – 2020.  
70 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Fortaleza, 2020.  
Orientação: Prof. Dr. Maria do Carmo Passos Rodrigues.  
Coorientação: Prof. Dr. Ana Paula Dionísio.
1. *Hylocereus polyrhizus* (F.A.C. Weber) Britton & Rose. 2. UPLC-ESI-QTOF-MSE. 3. Estabilidade. 4. Microfiltração. 5. Iogurte. I. Título.

CDD 664

---

ANA CAROLINA VIANA DE LIMA

CORANTE DE PITAIA VERMELHO-PÚRPURA NATURAL: PERFIL  
METABOLÔMICO, ASPECTOS TECNOLÓGICOS E APLICAÇÃO EM ALIMENTOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Área de concentração: Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Aprovada em: 19 / 11 / 2020.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof<sup>ª</sup>. Dra. Maria do Carmo Passos Rodrigues (Orientadora)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Dra. Ana Paula Dionísio (Coorientadora)  
Embrapa Agroindústria Tropical

---

Prof<sup>ª</sup> Dra. Sandra Machado Lira  
Universidade Estadual do Ceará (UECE)

---

Dra. Idila Maria da Silva Araujo  
Embrapa Agroindústria Tropical

---

Prof<sup>ª</sup>. Dra. Tatiana de Oliveira Lemos  
Universidade Federal do Maranhão (UFMA)

## AGRADECIMENTOS

À Deus, pela vida, por se fazer presente em todos os momentos, principalmente nos mais difíceis, por ter me proporcionado essa experiência em minha vida.

Aos meus pais, José Almir de Lima e Deolinda Viana Monteiro de Lima, pelo amor incondicional, por serem meus referenciais e o presente de Deus para minha vida.

À minha orientadora, Prof<sup>ª</sup>. Dra. Maria do Carmo Passos Rodrigues pelos ensinamentos, por toda ajuda no encaminhamento de toda a dissertação.

À minha coorientadora, Dra. Ana Paula Dionísio, por todo carinho e atenção, pelos ensinamentos proporcionados, pela paciência, pela alegria de sempre e por todos esses anos de Embrapa.

À banca examinadora, pelas valiosas contribuições para o aprimoramento deste trabalho.

Ao pesquisador da Embrapa Agroindústria Tropical Dr. Guilherme Julião Zocollo e aos seus orientandos de pós-graduação, Gisele Silvestre da Silva e Rodolfo Dantas Lima Junior, por todo empenho, auxílio e ensinamentos.

Aos técnicos de laboratório, Liana e Fernando, do Laboratório de Frutos da Universidade Federal do Ceará (UFC), por se disponibilizarem na realização das minhas análises.

À Embrapa Agroindústria Tropical, por todo o apoio dado a pesquisa, em especial aos empregados Marcia Régia Souza da Oliveira, Arthur Cláudio Rodrigues de Souza, Idila Maria da Silva Araújo, Hilton Magalhães, Fernando Antônio Pinto de Abreu, Carlos Alberto Kenji Taniguchi por me auxiliarem em todos os processos, análises realizadas, pelas conversas e brincadeiras. Vocês foram essenciais.

A todos do Laboratório de Processos Agroindustriais da Embrapa Agroindústria Tropical, pela grande ajuda, pelos almoços e conversas divertidas: Gecyene, Arleny, Gilleno, Andressa, Karol, Amanda, Luciliano, Erika e Débora.

A todos os bolsistas dos Laboratórios de Pós Colheita, Laboratório de Análise de Alimentos e Laboratório de Química de Produtos Naturais da Embrapa Agroindústria Tropical.

Aos meus amigos da graduação e pós-graduação, muito obrigada pelas conversas e ensinamentos.

Aos meus amigos da vida e “ex-embrapianos”, que muitas vezes me ouviram reclamar e me ajudaram a superar, agradeço muitíssimo a vocês.

Ao meu namorado, Gustavo, que desde o início vem me auxiliando e apoiando em minhas decisões, bem como já me ouviu reclamar e agradecer muito pelas coisas que estão

acontecendo em minha vida.

Ao Paulo Mendes, Secretário do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos /UFC, pelo profissionalismo e amizade.

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

À CAPES pelo incentivo financeiro e apoio a pesquisa.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização desta pesquisa, meus singelos agradecimentos.

“O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001”.

## RESUMO

A pitiaia (*Hylocereus polyrhizus*) vem se desenvolvendo muito bem no Brasil, em estados como São Paulo, Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Ceará, facilitando assim o cultivo e a comercialização por todo o país. Algumas características desse fruto vêm chamando a atenção de consumidores e pesquisadores, como o conteúdo de minerais, presença de compostos antioxidantes e principalmente a sua coloração atraente, está estando ligado ao alto teor de betalaínas. Desta forma podemos considerar seu uso potencial como corante natural a fim de substituir corantes artificiais utilizados comercialmente, que quando usados acima do valor permitido vem causando problemas à saúde dos consumidores. Assim, este estudo objetivou caracterizar corante de pitiaia, oriundo da espécie *Hylocereus polyrhizus*, avaliar sua estabilidade de armazenamento por meio de análises químicas, físico-químicas, microbiológicas e utilizando técnicas de UPLC-ESI-QTOF-MS<sup>E</sup> combinada com ferramentas estatísticas, além de verificar sua potencial aplicação em iogurtes por meios de testes sensoriais e compará-los com produtos comerciais que utilizam corante carmim ou beterraba como corante alimentar em suas formulações. Os resultados mostraram que o UPLC-ESI-QTOF-MS<sup>E</sup> foi eficaz para a determinação simultânea de vinte metabólitos, identificados como carboidratos, flavonoides e betalaínas. O CPVPM mostrou estabilidade microbiológica e físico-química até doze semanas de armazenamento e as análises quimiométricas distinguiram eficientemente o perfil metabólico em cada período de armazenamento. A análise sensorial revelou que o CPVPM foi eficiente como corante alimentar, especialmente em iogurte, melhorando a qualidade da cor sem afetar o aroma e outras características. Estes resultados indicam que o CPVPM, um corante natural, é um ingrediente alimentar promissor como corante vermelho-púrpura natural.

**Palavras-chave:** *Hylocereus polyrhizus* (F.A.C. Weber) Britton & Rose. UPLC-ESI-QTOF-MS<sup>E</sup>. Estabilidade. Microfiltração. Iogurte.

## ABSTRACT

The pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) has been developing very well in Brazil, in states like São Paulo, Rio Grande do Sul, Santa Catarina and Ceará, thus facilitating the cultivation and commercialization throughout the country. Some characteristics of this fruit have been attracting the attention of consumers and researchers, such as the mineral content, presence of antioxidant compounds and mainly its attractive coloring, this being linked to the high content of betalains. Thus, we can consider its potential use as a natural dye in order to replace artificial dyes used commercially, which when used above the allowed value has been causing problems to the health of consumers. Thus, this study aimed to characterize dye of pitaia, from the species *Hylocereus polyrhizus*, to evaluate its storage stability through chemical, physical-chemical, microbiological analyzes and using UPLC-ESI-QTOF-MSE techniques combined with statistical tools, in addition to verify their potential application in yoghurts by means of sensory tests and compare them with commercial products that use carmine or beet dye as food coloring in their formulations. The results showed that UPLC-ESI-QTOF-MS<sup>E</sup> was effective for the simultaneous determination of twenty metabolites, putatively identified as carbohydrates, flavonoids, and betalains. The MRPPC was shown to have microbiological and physicochemical stability through twelve weeks of storage, and chemometric analyses efficiently distinguished the metabolic profile in each storage period. Sensory analysis revealed that the MRPPC was effective as a food colorant in yogurt, where it improved color quality without affecting aroma and other characteristics. These results indicate that MRPPC is promising food ingredient as a natural red-purple colorant.

**Keywords:** *Hylocereus polyrhizus* (F.A.C. Weber) Britton & Rose. UPLC-ESI-QTOF-MS<sup>E</sup>. Stability. Microfiltration. Yogurt.



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Pitaia ( <i>Hylocereus polyrhizus</i> (FAC Weber) Britton & Rose).....	16
Figura 2 -	Estrutura do ácido betalâmico (a), ciclo-DOPA (b), betacianinas (c) e betaxantinas(d).....	18
Figura 3 -	Estrutura da betanina (a), betanidina (b), filocactina (c), 2'-O-apiosilfilocactina (d), 2-descarboxy-betanidina (e), 2-descarboxy-betanina (f) e 6'-O-malonil-2-descarboxy-betanina (g).....	19
Figura 4 -	Processo de filtração por membrana, representação do permeado e retido.....	25
Figura 5 -	Fluxograma de obtenção de corante de pitaia vermelho-púrpura microfiltrado.....	27
Figura 6 -	Coloração do corante de pitaia vermelho-púrpura logo após o processamento (T0).....	43
Figura 7 -	Cromatogramas BPI representativos mostrando os perfis de corante pitaia vermelho-púrpura microfiltrado em diferentes períodos de armazenamento.....	45
Figura 8 -	Dendrograma representando o agrupamento hierárquico do perfil químico do corante pitaia vermelho-púrpura microfiltrado (CPVPM).....	49
Figura 9 -	Análise por iPCA de amostras de CPVPM em diferentes tempos de armazenamento e o comportamento da variação na abundância relativa (Fig. c, d, e, f e g) dos principais metabólitos.....	51
Figura 10 -	Heatmap com agrupamento hierárquico de parte dos principais metabólitos obtidos para o corante pitaia analisado em diferentes tempos de armazenamento.....	53
Figura 11 -	Coloração dos iogurtes contendo o CPVPM de A – D e os comerciais E e F, utilizados na análise sensorial.....	55
Figura 12 -	Percentuais de idealidade para as formulações A, B, C e D.....	56
Figura 13 -	Compostos voláteis de iogurtes contendo diferentes concentrações de corante pitaia vermelho-púrpura microfiltrado (CPVPM e controle).....	58

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Comercialização de pitaia por região do Brasil em 2019.....	15
Tabela 2 - Tabela 2 - Comercialização de pitaia por Estado no Brasil em 2019 e 2020.....	15
Tabela 3 - Tabela 3 - Caracterização de corante de pitaia vermelho-púrpura microfiltrado (CPVPM).....	36
Tabela 4 - Tabela 4 - Dados cromatográficos e de espectrometria de massa de UPLC-Q-TOF-MSE de corante pitaia vermelho-púrpura microfiltrado obtidos por UPLC-QTOF-MSE no íon modo positivo.....	38
Tabela 5 - Tabela 5 - Efeitos do armazenamento nas características físico-químicas, químicas e microbiológicas do corante pitaia vermelho-púrpura microfiltrado (CPVPM).....	42
Tabela 6 - Tabela 6 - Caracterização do iogurte com diferentes concentrações do corante pitaia vermelho-púrpura microfiltrado (CPVPM).....	54
Tabela 7 - Tabela 7 - Resultados da avaliação sensorial do aroma, sabor estranho e aceitação de cor de iogurtes A – F e teste de escala do ideal em comparação com amostras comerciais.....	57

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CPVPM	Corante de pitaia vermelho-púrpura microfiltrado
UPLC-Q-TOF-MS <sup>E</sup>	Cromatografia líquida de ultra performance acoplado a espectrômetro de massa quadrupolo de tempo-de-voó
iPCA	Análise interativa de componentes principais
HCA	Análise Hierárquica de Cluster
Heatmap <sup>2</sup>	Análise de mapa de calor bidirecional
GAE	Equivalente em ácido gálico
DP	Desvio padrão
HS-SPME	Microextração em fase sólida por headspace
PCs	Componentes principais
GC-MS	Cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massa
<i>m/z</i>	Dados de massa
tR	Tempo de retenção
PPO	Polifenol oxidase
Cfu	Unidades formadoras de colônias
ΔE	Diferença na cor
BPI	Intensidade do pico base
CPVPM ( <i>n</i> ):	Onde ( <i>n</i> ): <i>n</i> = 0, 1, 2 e 3 referem-se ao período de armazenamento
CPVPMT0	Após o processamento
CPVPMT1	Após quatro semanas de armazenamento
CPVPMT2	Após oito semanas de armazenamento
CPVPMT3	Após doze semanas de armazenamento
SI	Índice de similaridade
Erro de massa	(detectado <i>m/z</i> - teórico <i>m/z</i> ) / teórico <i>m/z</i> x 10 <sup>6</sup> ppm

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>12</b>
<b>2</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>14</b>
2.1	Aspectos gerais da pitaiá .....	14
2.2	Compostos bioativos da pitaiá e potencial biológico .....	16
2.3	Betalaínas .....	17
2.3.1	<i>Formação das betalaínas: betacianinas e betaxantinas.</i> .....	18
2.3.2	<i>Fatores que afetam a estabilidade das betalaínas</i> .....	20
2.4	Corantes alimentícios .....	21
2.4.1	<i>Corantes naturais</i> .....	22
2.5	Separação por membrana: Microfiltração .....	24
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>26</b>
3.1	Matéria-prima .....	26
3.2	Obtenção do corante de pitaiá vermelho-púrpura microfiltrado (CPVPM) .....	26
3.3	Métodos de Análises .....	28
3.3.1	<i>Composição centesimal</i> .....	28
3.3.1.1	Proteínas .....	28
3.3.1.2	Lipídios .....	28
3.3.1.3	Cinzas .....	28
3.3.1.4	Umidade .....	28
3.3.1.5	Carboidratos .....	28
3.3.2	<i>Análise de minerais</i> .....	28
3.3.3	<i>Atividade de água (Aw)</i> .....	29
3.3.4	<i>Sólidos solúveis</i> .....	29
3.3.5	<i>Colorimetria</i> .....	29
3.3.6	<i>Potencial hidrogeniônico (pH)</i> .....	29
3.3.7	<i>Acidez titulável</i> .....	29
3.3.8	<i>Polifenóis extraíveis totais (PET)</i> .....	30

3.3.9	<i>Estudo do perfil químico</i> .....	30
3.3.9.1	Análises UPLC-ESI-QTOF-MS <sup>E</sup> .....	30
3.3.9.2	Análise quimiométrica de dados de UPLC-QTOF-MS <sup>E</sup> .....	31
3.3.10	<i>Análises microbiológicas</i> .....	32
3.3.11	<i>Estabilidade de armazenamento do CPVPM refrigerado</i> .....	32
3.3.12	<i>Análise sensorial</i> .....	32
3.3.12.1	Grupo focal.....	32
3.3.12.2	Testes afetivos de iogurte com CPVPM.....	33
3.3.12.3	Testes de diferença .....	34
3.3.12.4	Compostos voláteis de iogurte formulados com CPVPM.....	34
3.3.12.5	Caracterização de iogurte natural comercial (controle) e iogurte com o corante.....	34
3.3.13	<i>Análise estatística</i> .....	35
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>35</b>
4.1	Caracterização do corante de pitaia vermelho-purpura microfiltrado (CPVPM).....	<b>35</b>
4.1.1	<i>Carboidratos</i> .....	45
4.1.2	<i>Betalainas</i> .....	46
4.1.3	<i>Flavonoides</i> .....	47
4.1.4	<i>Análise de dados multivariada</i> .....	47
4.2	Caracterização do produto (Iogurte).....	<b>53</b>
4.2.1	<i>Grupo focal</i> .....	53
4.2.2	<i>Caracterização físico-química do produto (iogurte)</i> .....	54
4.3	Análise sensorial do produto (iogurte) .....	<b>55</b>
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>59</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>60</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A cor desempenha um papel importante no aprimoramento do apelo estético dos produtos alimentícios. Os corantes são comumente usados para recuperar a perda da cor natural dos alimentos como resultado de procedimentos de processamento de alimentos (por exemplo, tratamento térmico, acidificação, etc.) e melhorar a aparência dos produtos alimentares (YEE; WAH, 2017). A preocupação pública sobre os efeitos nocivos possíveis ou comprovados dos corantes artificiais para alimentos tem motivado a busca por fontes naturais de corantes (SIGURDSON; TANG; GIUSTI, 2017). Consequentemente, pigmentos naturais extraídos de fontes biológicas, como plantas, fungos, bactérias e algas, atraíram atenção significativa (LIMA et al., 2020).

O uso do corante natural carmim, um pigmento derivado da escama de inseto cochonilha (*Dactylopius coccus Costa*), recebeu críticas generalizadas por causa de sua origem “não-vegana”, conteúdo indesejado de alumínio em lagos carmim, problemas microbiológicos recorrentes e capacidade de induzir reações alérgicas (SCHWEIGGERT, 2018). A busca por fontes alternativas de carmim ganhou impulso em todo o mundo porque é uma das cores mais comumente usadas para preparações de frutas e laticínios (por exemplo, iogurte de morango) (ROCA; LEMONNIER; ROUBILLE, 2015).

Algumas categorias principais de pigmentos vegetais incluem antocianinas e outros flavonoides, carotenoides, clorofilas e betalaínas. Esses últimos são uma classe de pigmentos naturais que incluem betaxantinas amarelas e betacianinas. Por muito tempo, a beterraba vermelha é considerada a única fonte de betalaínas e usada exclusivamente para atender a 10% da demanda global total de corantes alimentares (SLIMEN; NAJAR; ABDERRABBA, 2017). No entanto, os pigmentos de beterraba têm grandes desvantagens devido à co-presença de sabores intensos e aromas, como a geosmina da terra e vários derivados de pirazina, que não são aceitos por alguns consumidores (SCHWEIGGERT, 2018).

Nos últimos anos, novas fontes promissoras de betalaínas foram relatadas (ESATBEYOGLU et al., 2015; SLIMEN; NAJAR; ABDERRABBA, 2017), incluindo as espécies *Hylocereus*. Nesse contexto, a pitiaia (*Hylocereus polyrhizus* (FAC Weber) Britton & Rose) ou fruta do dragão atrai a atenção como uma fonte potencial de corantes naturais, devido à sua casca vermelho-púrpura e cor da polpa (SANTOS et al., 2020), além de suas propriedades funcionais, como atividade ansiolítica (LIRA et al., 2020). Em termos agronômicos e ambientais, a pitiaia cresce e se multiplica facilmente em terras áridas/secas, o que implica um menor investimento para o seu cultivo. Portanto, essas plantas podem ser

usadas como fonte de fitoquímicos e como ração animal após a extração do corante (SLIMEN; NAJAR; ABDERRABBA, 2017). Nesse contexto, à betalaína extraída da pitaia como fonte alternativa de beterraba vermelha é promissora.

Neste estudo objetivou caracterizar o corante de pitaia vermelho-púrpura microfiltrado, avaliar sua estabilidade de armazenamento por meio de análises químicas, físico-químicas, microbiológicas e utilizando técnicas de UPLC-ESI-QTOF-MS<sup>E</sup> combinada com ferramentas estatísticas, além de verificar sua potencial aplicação em iogurtes por meios de testes sensoriais.

## 2. REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1. Aspectos gerais da pitáia

A pitáia, também conhecida como “Fruta Dragão”, pertence à família das cactáceas (MERCADO-SILVA, 2018). Existem 18 espécies de pitáia, dentre elas a *Hylocereus undatus*, *H. costaricensis*, *H. polyrhizus*, *Selenicereus megalanthus*, *S. setaceus* exibem diferentes cores de casca, variando do vermelho-púrpura ao amarelo; de polpa branca ou vermelho-púrpura; além de formatos diversos e presença ou não de espinho (GUNASENA; G.PUSHPAKUMARA; KARIYAWASAM, 2007; ALVARADO et al., 2003; JUNQUEIRA et al., 2010).

A pitáia foi encontrada nas Américas Central e do Sul, devido ao clima destas regiões ser mais propício ao seu desenvolvimento (MERCADO-SILVA, 2018). Os dois países que mais se destacam na produção mundial dessa fruta, são Colômbia e México, entretanto, estão sendo cultivadas em vários outros países, como: Venezuela, Costa Rica, Nicarágua, Malásia, Tailândia, Taiwan, Austrália, China, Brasil, dentre outros (JAMILAH et al., 2011; ABREU et al., 2012; EE et al., 2014).

O cultivo de pitáia (*Hylocereus* sp.) no Brasil teve início com a espécie *H. undatus* na década de 90, no estado de São Paulo. A partir dos anos 2000, outras espécies foram inseridas, como a *H. polyrhizus* e a pitáia do Cerrado, *Selenicereus setaceus* (NUNES et al., 2014; JUNQUEIRA et al. 2010). A região de Catanduva, em São Paulo, se destaca como maior produtora do fruto no país, ocorrendo à produção entre os meses de dezembro a maio (PROHORT, 2014; ABREU et al., 2012). Atualmente, São Paulo ainda se sobressai sendo seguido por Rio Grande do Sul, Minas Gerais e Paraná, em termos de produção (PROHORT, 2019).

O Programa Brasileiro de Modernização do Mercado Hortigranjeiro (PROHORT), afirma que a comercialização da pitáia no país teve início em 2005 (PROHORT, 2019). Em 2017, dados da Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais de São Paulo (CEAGESP) informam que foram comercializados mais de 604.891 Kg do fruto (CEAGESP, 2017). Apesar de São Paulo se sobressair, outros estados também estão desenvolvendo cultivos comerciais, como: Minas Gerais, Paraná, Santa Catarina, Mato Grosso do Sul, Rio Grande do Norte, Ceará e Pernambuco (SILVA, 2014). Em 2019, a região Sudeste se sobressai em termos de comercialização e a região Nordeste ficou em 4º lugar precedido da região Sudeste, Sul e Norte, respectivamente (Tabela 1) (PROHORT, 2019).



Tabela 1. Comercialização de pitaia por região do Brasil em 2019.

Ano Comercialização	Centro-oeste	Nordeste	Norte	Sudeste	Sul
2019	7.547 Kg	46.748 Kg	127.638 Kg	717.453 Kg	440.101 Kg

Fonte: PROHORT, 2019

O Ceará apresenta regiões de cultivo, durante todo o ano, em áreas da Chapada do Apodi, Limoeiro do Norte, Quixeré, Beberibe e Vale do Jaguaribe. A área de cultivo de pitaia no estado, em 2014, representava 15 hectares, atualmente houve um aumento e já são cerca de 40 hectares (NUNES et al., 2014; OLIVEIRA, 2019). O Ceará, em 2019, alcançou 5º lugar em volume comercializado no país, representando 3,9% (45.224 Kg) do total nas CEASAS, ficando atrás de São Paulo com 51%, Santa Catarina (17,8%), Rio Grande do Sul (16,9%) e de Minas Gerais com 7,6% (PROHORT, 2019). O Estado do Ceará apresenta um enorme potencial para o ano de 2020, se destacando juntamente com Estados do Sudeste e Sul, onde até o momento já comercializou 30.879 Kg de pitaia, como pode ser observado na Tabela 2.

Tabela 2. Comercialização de pitaia por Estado no Brasil em 2019 e 2020.

Ano Comercialização	CE	MG	SP	PR	RS	SC
2019	45.224 Kg	88.981 Kg	598.929 Kg	32.512 Kg	198.395 Kg	209.194 Kg
2020	30.879 Kg	45.475 Kg	348.208 Kg	34.227 Kg	33.132 Kg	146.315 Kg

Fonte: PROHORT, 2019

Dentre as espécies de pitaia existentes, a *Hylocereus polyrhizus* (FAC Weber) Britton & Rose está listada como sendo uma das mais produzidas e comercializadas no Brasil, perdendo apenas para a *Hylocereus undatus* (REZENDE et al., 2017). Esta espécie apresenta características sensoriais e de aparência peculiares e atrativas (ALVES; MONTEIRO; POMPEU, 2018), exibindo coloração vermelho-púrpura (Figura 1), tanto na polpa quanto na casca, polpa delicada e firme, com pequenas sementes de cor escura bem dispersas por toda a polpa. Também vale salientar, que o sabor suave e agradável e o valor nutricional estão despertando um novo olhar para esse fruto (ABREU et al., 2012). Desta forma, vem sendo consumido não somente de forma natural, mas também como sorvetes, sucos, vinhos e adicionado em saladas (ALVES; MONTEIRO; POMPEU, 2018).

Figura 1. Pitaia (*Hylocereus polyrhizus* (FAC Weber) Britton & Rose)



Fonte: Autora

A pitaia *Hylocereus polyrhizus* (FAC Weber) Britton & Rose possui alto teor de umidade, poucos lipídios e proteínas, possui acidez baixa, porém o que desperta maior interesse em estudos científicos é a quantidade de compostos bioativos, especialmente pigmentos e compostos fenólicos, comumente relacionados com a defesa do vegetal, mas quando ingeridos na alimentação, mesmo em concentrações baixas, tem papel antioxidante (MANACH et al. 2004; NUNES et al., 2014).

O fruto é citado como fonte de algumas substâncias, como vitaminas E, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> e B<sub>3</sub>, ácido ascórbico, flavonoides, tocoferol, betalaínas e alguns minerais, como magnésio, potássio, cálcio, onde dependendo da espécie essas substâncias se apresentam em maior ou menor concentração (SIES & STAHL. 1995; WICHIENTHOT, JATUPORNPIPAT, RASTALL, 2010; KUNNIKA, PRANEE, 2011; CORDEIRO et al., 2015; VIZZOTTO et al., 2016; GARCÍA-CRUZ et al., 2017). Apresenta alto conteúdo de fibras alimentares, principalmente fibras insolúveis, baixo valor calórico e ômega-3 (COELHO et al., 2020).

## 2.2. Compostos bioativos da pitaia e potencial biológico

A presença de compostos bioativos na pitaia está relacionada ao seu sistema de defesa contra ataques de insetos e radiação ultravioleta (NUNES et al., 2014). Estudos realizados por Wichienchot, Jatupornpipat, Rastall (2010) e Choo, Koh, Ling (2016) sugeriram que na polpa de pitaias brancas e vermelhas (*H. polyrhizus*) há alguns oligossacarídeos de diferentes pesos moleculares com propriedades prebióticas semelhantes à frutoligossacarídeos e oligofrutoses. Esses apresentaram certa resistência à acidez estomacal e capacidade de estimular o crescimento e atividade de lactobacilos e bifidobactérias, que são bactérias presentes no cólon, contribuindo para a saúde (ESQUIVEL; ARAYA QUESADA, 2012).

Dentre os frutos de cactos, a pitiaia *Hylocereus polyrhizus* (FAC Weber) Britton & Rose se destaca como sendo a que possui maiores concentrações de betalaínas (BARQUERO; MADRIGAL, 2010). A betalaína um pigmento vegetal, ainda pouco estudado quando comparado a carotenoides, clorofila e antocianinas. Esse pigmento está em evidência por apresentarem coloração atraente, atividade antioxidante, dentre outros fatores (ADNAN; OSMAN; HAMID, 2011; RAVICHANDRAN et al., 2013; IMTIYAJ KHAN, 2016).

O consumo de substâncias com propriedades antioxidantes promovem uma maior proteção contra danos oxidativos que ocorrem naturalmente, em nosso organismo, captando os radicais livres que causam estresse (MELLO et al., 2015; SARMENTO, 2017). Existem relatos que as betalaínas são também responsáveis por propriedades antimicrobianas e antiinflamatórias, podendo ser capazes de reduzir o risco de câncer e de problemas cardiovasculares e propriedades hepatoprotetoras (GENGATHARAN; DYKES; CHOO, 2015; RAZAK et al., 2017). Também pode reduzir os efeitos da diabetes mellitus, através da redução do estresse oxidativo (COELHO et al., 2020).

Estudos realizados com pitaias do semiárido brasileiro da espécie *H. polyrhizus* detectaram compostos bioativos de betalaínas, tanto betacianinas quanto betaxantinas (SARMENTO, 2017). Nesse estudo, o autor afirmou que a atividade antioxidante da pitiaia está correlacionada com os polifenóis e as betacianinas, resultados semelhantes também foram encontrados por Wu et al. (2006) e Adnan, Osman, Hamid (2011).

### **2.3. Betalaínas**

Betalaínas são pigmentos naturais que possuem em sua estrutura, ácido betalâmico adicionado de radical nitrogenado, podendo ser radicais com moléculas mais simples ou mais complexas, com isso a coloração também será alterada, abrangendo desde vermelho até o amarelo, passando pelo vermelho-púrpura, modificando, assim, também sua estabilidade (VOLP, RENHE, STRINGUETA, 2009). Não apresentam toxicidade, são solúveis em água e podem ser usadas em diversos alimentos, visto que, atuam de maneira eficiente em uma ampla faixa de pH, entre 3 e 7, tendo ótimo de estabilidade do pigmento em pH 3 a 5. Dessa forma, pode ser adicionado em uma grande variedade de alimentos (VOLP, RENHE, STRINGUETA, 2009; MELLO et al., 2015; MONTES-LORA et al., 2016).

Podem encontradas em raízes, flores e frutos. As principais fontes desses compostos são beterraba (*Beta vulgaris* L.), frutos de cactos como pitiaia (*Hylocereus* spp.) e opuntia (*Opuntia* spp.), flores do amaranto vermelho (*Amaranthus cruentus* L.), acelga, dentre outros (GONÇALVES et al., 2015). As beterrabas possuem uma variedade de tons, estando

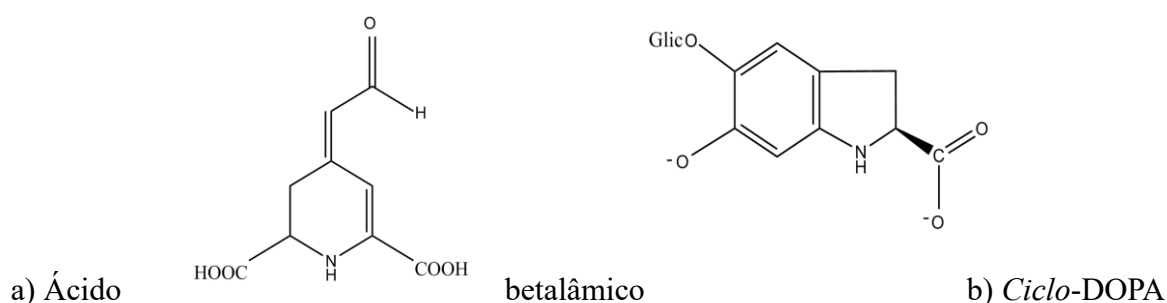
relacionado ao percentual referente à composição de suas betalaínas, sendo em sua maioria betacianinas, cerca de 80% tendo maior ocorrência de betaninas e seus isômeros, como nas pitaias da espécie *Hylocereus spp* (KUJALA et al., 2001). Outras betalaínas são encontradas nas beterrabas em menor quantidade, betanidina, prebetaninas e seus isômeros (PRECZENHAK; KLUGE, 2016). Diferente do que corre com a pitaias *Hylocereus spp.*, nas beterrabas as betaxantinas aparecem em sua composição vulgaxantina I, II e indicaxantinas (KUJALA et al., 2001; KLUGE; PRECZENHAK, 2016).

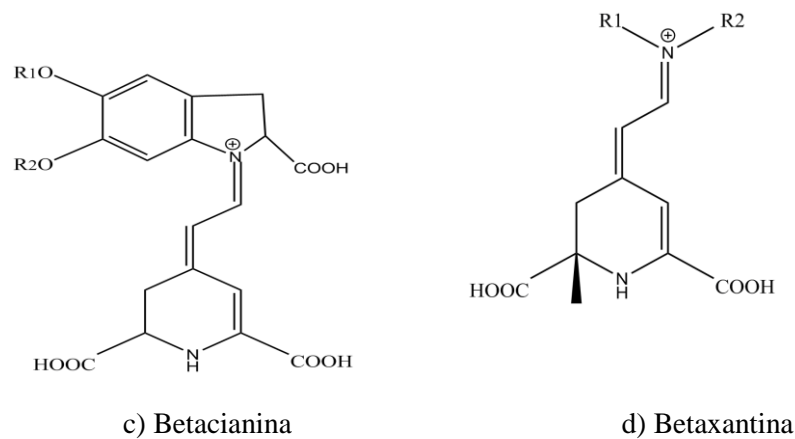
### 2.3.1. Formação das betalaínas: betacianinas e betaxantinas.

A formação das betalaínas ocorre a partir da condensação do ácido betalâmico (Figura 2a) com um composto amino, que pode ser o *ciclo*-DOPA (Figura 2b) e seus derivados de glicosil, formando as betacianinas (Figura 2c), de coloração vermelho-púrpura e quando condensadas com um aminoácido ou seus derivados, formam as betaxantinas (Figura 2d), de coloração amarela (SLIMEN; NAJAR; ABDERRABBA, 2017). As betaxantinas se mostram menos estáveis que as betacianinas. As mais conhecidas são a indicaxantina e vulgaxantina I, onde a primeira possui em sua estrutura uma porção de prolina e a segunda uma de glutamina (STINTZING; SCHIEBER; CARLE, 2002).

Reações de acilação e glicosilação dos carbonos 5 e 6 na posição *orto*, são responsáveis pela formação das betacianinas (Figura 2a) com diferentes estruturas. A partir dessa diferença, as betacianinas são classificadas, como: betanina (Figura 3a), gomfrenina, amarantina e buganvilina essa divisão se baseia na mudança na estrutura química (POLTURAK; AHARONI, 2018). A ligação que ocorre no grupo glicosil à ligação de oxigênio na posição *orto* do *ciclo*-DOPA é responsável pela diferença entre as quatro classes (SLIMEN; NAJAR; ABDERRABBA, 2017;).

Figura 2. Estrutura do ácido betalâmico (a), *ciclo*-DOPA (b), betacianinas (c) e betaxantinas (d).

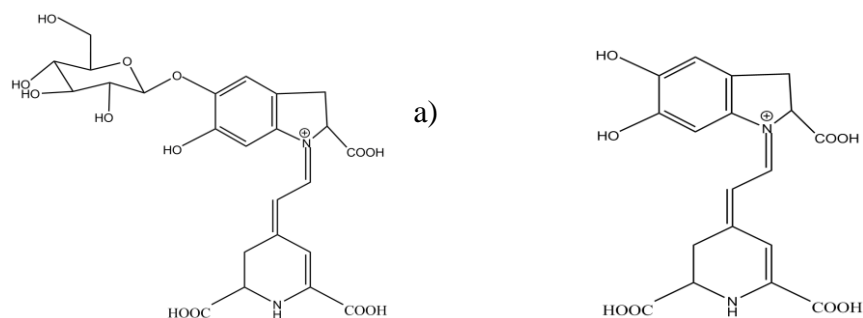




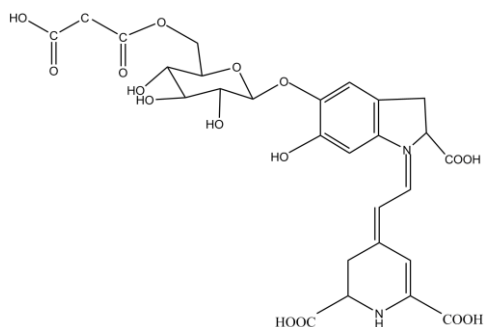
Fonte: Slimen, Najar e Abderrabba (2017) e Imtiyaj Khan, Girdhar (2015).

No caso das pitaias (*Hylocereus* sp.), o grupo de betacianinas que são encontradas com maior frequência são as betaninas. Estas se caracterizam por possuir uma hidroxila ligada ao carbono 6 e um grupo glicosil ligado carbono 5, além de possuir em sua estrutura química uma betanidina (Figura 3b), que se distinguem por apresentarem hidroxilas nos carbonos 5 e 6 e são formadas pela acilação do ácido betalâmico e o *ciclo*-DOPA (HARRIS, JAVELLANA, DAVIS, 2012; STINTZING et al., 2004). Outras substâncias que estão presentes nas pitaias são as filocactinas (Figura 3c), que possuem um malonil ligado à glicose no carbono 6; a 2'-*O*-apiosilfilocactina, que apresenta uma pentose (apiose) ligada ao carbono 2 na posição *orto*; 2-descarboxy-betanidina, formada a partir da condensação do ácido betalâmico com a 2-descarboxy-*ciclo*-DOPA (formada pela oxidação da dopamina); 2-descarboxy-betanina, constituída pela substituição da hidroxila por grupo glicosil no carbono 5 da 2-descarboxy-betanidina e o 6'-*O*-malonil-2-descarboxy-betanina, formado a partir da substância anteriormente citada, onde há a inserção de um grupo malonil na parte glicosídica no carbono 6, na posição *orto* (IMTIYAJ KHAN; GIRIDHAR, 2015; STRACK, VOGT, SCHLIEMANN, 2003; SLIMEN; NAJAR; ABDERRABBA, 2017).

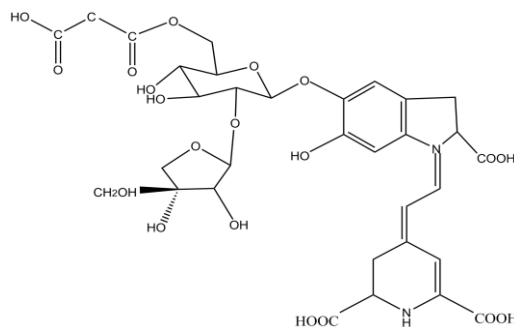
Figura 3. Estrutura da betanina (a), betanidina (b), filocactina (c), 2'-*O*-apiosilfilocactina (d), 2-descarboxy-betanidina (e), 2-descarboxy-betanina (f) e 6'-*O*-malonil-2-descarboxy-betanina (g).



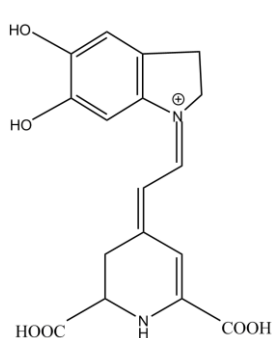
b) Betanina



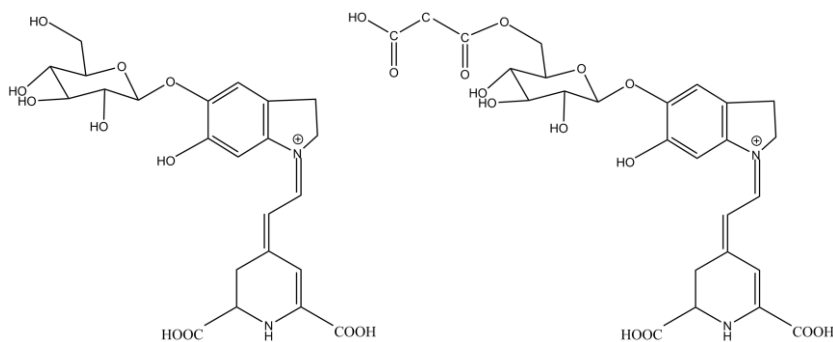
b) Betanidina



c) Filocactina



d) 2'-O-Apiosilfilocactina



e) 2-Descarboxy-betanidina

f) 2-Descarboxy-betanina

g) 6'-O-Malonil-betanina

Fonte: Slimen, Najar, Abderrabba (2017), Imtiyaj Khan, Girdhar (2015) e Gonçalves et al. (2015)

### 2.3.2. Fatores que afetam a estabilidade das betalainas

A estabilidade das betalainas no decorrer do processamento e armazenamento pode ser afetada por diversos fatores e envolve reações de isomerização, desglicosilação, hidrólise, descarboxilação e desidrogenação (ESQUIVEL, 2016). A alteração da estabilidade do pigmento tem como consequências perda da coloração e redução de suas propriedades funcionais, bem como, formação de novos compostos (HERBACH; STINTZING, 2006).

Temperatura, atividade de água, luz, pH, presença de oxigênio e de íons metálicos, e também a ação de algumas enzimas, como: as  $\beta$ -glucosidases, polifenoloxidasas, catalase e peroxidases, que vão promover a descoloração do pigmento, são os principais responsáveis por alterar a estabilidade das betalainas (HERBACH; STINTZING; CARLE; 2006; IMTIYAJ KHAN, 2016).

As betalaínas são moléculas sensíveis ao calor, onde o aumento da temperatura promove também a elevação da taxa de degradação do pigmento, sendo indicado o uso de temperaturas entre 50-60 °C para o processamento e abaixo de 10 °C, para o armazenamento, sem que as betalaínas sofram grandes alterações (AZEREDO, 2009; ESQUIVEL, 2016). A degradação em virtude do uso de temperaturas inadequadas promove a perda da cor ou escurecimento desse pigmento (SLIMEN; NAJAR; ABDERRABBA, 2017).

O pH, geralmente, não promove grandes alterações na estabilidade das betalaínas devido se comportarem de maneira estável em uma ampla faixa de pH, entre 3 e 7, entretanto as betacianinas apresentam uma estabilidade maior em pH 5,5, enquanto as betaxantinas, entre 4 e 7 (ESQUIVEL, 2016). Com valores de pH abaixo de 2 e acima de 8, ocorre a degradação do pigmento, havendo a liberação de ácido betalâmico. O pH muito ácido promove a isomerização de betanina e betanidina, formando isobetanina e isobetanidina (STINTZING et al., 2004, AZEREDO, 2009). O ácido betalâmico pode condensar depois com ciclo-DOPA ou aminoácidos para formar as betalaínas novamente (SLIMEN; NAJAR; ABDERRABBA, 2017).

Em relação à atividade de água, valores abaixo de 0,63 promovem uma maior estabilidade, ocorrendo uma maior degradação com valores acima de 0,64 (MARTINS et al., 2017). A redução dos níveis de oxigênio em contato com a betalaína promove a redução da degradação do pigmento (AZEREDO, 2009). Por fim, recomenda-se que para obter uma maior estabilidade das betalaínas, no geral, apresentem valores de pH de cerca de 5 e sejam armazenados em temperaturas abaixo de 10 °C, para permitir a regeneração das betalaínas a partir de produtos de degradação (SCHWARTZ. VON ELBE, 1983).

#### **2.4. Corantes alimentícios**

A classe de atributo sensorial em que primeiramente é levada em conta na hora da compra, por parte do consumidor, é a aparência do alimento. A cor desempenha um papel importante na aceitabilidade, estando responsável por 75% da avaliação feita pelos consumidores, sendo muitas vezes usada para indicar qualidade, sabor e também valor nutricional. Para que se obtenha uma aparência adequada, às vezes, é necessária a adição de algum aditivo alimentar (SIGURDSON; TANG; GIUSTI, 2017; FOOD INGREDIENTS, 2016; ADITIVOS & INGREDIENTES, 2011).

A Portaria SVS/MS N° 540/97 define aditivos alimentares, como qualquer ingrediente adicionado de forma intencional aos alimentos, tendo como objetivo promover mudanças químicas, físicas ou sensoriais, em diferentes etapas, como: fabricação, processamento,

preparo, embalagem, armazenamento, transporte ou manipulação; sem ter a finalidade de nutrir. Os aditivos podem possuir diversas funções, como: espessantes, acidulante, antiespumante, antiemectante, antioxidante, edulcorante, geleificantes, corante, dentre outras (BRASIL, 1997).

No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) é a responsável por controlar o uso de corantes alimentícios e se baseia nas normas estabelecidas pela Joint FAO/WHO Expert Comission on Food Additives (JECFA), pelo Codex Alimentarius, dentre outros. Segundo a Resolução da ANVISA - CNNPA N° 44/77, corantes são definidos como substâncias ou mistura de substâncias que tem por finalidade atribuir, intensificar ou restaurar a cor de um alimento ou bebida. Essa resolução também traz a classificação dos corantes, corante orgânico natural, corante inorgânico, caramelo, caramelo (processo amônia) e por fim, orgânico sintético, que se divide em corante artificial e corante orgânico sintético idêntico ao natural (BRASIL, 1977).

Os corantes artificiais podem ser definidos como corante orgânico que não é encontrado em produtos naturais (BRASIL, 1977). Muitos alimentos são submetidos à adição de corantes artificiais em decorrência de degradação do pigmento durante o processamento, em especial nos que envolvem o uso de calor na qual ocorrem maiores alterações; para intensificar a cor original; para haver padronização; dar cor a alimentos que não a possuem ou melhorar a aceitação pelos consumidores. Apesar de possuírem maior estabilidade (luz, calor, oxigênio e pH) quando adicionados nas matrizes alimentares e uma maior possibilidade de cores, não possuem nenhum valor nutritivo (NGAMWONGLUMLERT; DEVAHASTIN; CHIEWCHAN, 2016).

O Brasil permite a utilização de alguns corantes artificiais: amarelo crepúsculo, azul brilhante FCF, bordeaux S ou amaranto, eritrosina, indigotina, ponceau 4R, tartrazina e o vermelho 40 (FOOD INGREDIENTS, 2016). A ANVISA autoriza o uso desses corantes e através de estudos toxicológicos mostram que se forem utilizados dentro dos limites máximos estabelecidos não causam nenhum mal à saúde, entretanto, muitos outros estudos alegam seu possível poder cancerígeno, ainda podendo causar alergias e irritações dermatológicas, quando utilizado em excesso (HAMERSKI, REZENDE, SILVA, 2013). Dessa forma, o uso de corantes naturais está em alta demanda no mercado, que vem buscando alimentos mais naturais que sejam livres de aditivos artificiais (SIGURDSON; TANG; GIUSTI, 2017).

#### **2.4.1. Corantes naturais**

Conforme Resolução da ANVISA - CNNPA N° 44/77, corante natural é considerado aquele obtido a partir de vegetal, ou eventualmente, de animal, cujo princípio corante tenha sido



isolado com o emprego de processo tecnológico adequado. Exemplos: clorofila, caramelo, carotenoides, xantofilas, antocianinas (BRASIL, 1977). Os corantes naturais possuem diversas cores, menos que os sintéticos, mas dão uma coloração mais natural quando adicionados, podem ser benéficos à saúde, além de serem biodegradáveis (RAZAK et al., 2017). O interesse por esta substituição é em decorrência de muitos corantes artificiais, quando usados fora do limite permitido, estarem se mostrando causadores de doenças em consumidores, como citado anteriormente (CELLI, BROOKS, 2017). Apesar dos benefícios, os corantes naturais apresentam menor estabilidade se comparados aos artificiais, sendo afetados pela oxidação, pH, luz e temperatura, além de necessitar de maiores custos para sua produção (STINTZING, CARLE, 2007; RAZAK et al., 2017).

Os pigmentos naturais que mais são explorados são os de fonte vegetal, devido seu poder de pigmentação são carotenoides, antocianinas, betalaínas, clorofila. Porém comercialmente os mais empregados na indústria alimentícia são os extratos de urucum, carmin de cochonilha, curcumina, antocianinas e as betalaínas. O carmin de cochonilha, é um corante utilizado em alimentos com pH superior a 3,5 e tem como principal constituinte o ácido carmínico, que é extraído a partir de fêmeas dessecadas de insetos da espécie *Dactylopius coccus Costa*. Esse inseto vem sendo utilizado para obtenção de corantes de coloração avermelhada (FOOD INGREDIENTS, 2016; ADITIVOS & INGREDIENTES, 2011; MÜLLER-MAATSCH; GRAS, 2016).

Há uma crescente conscientização por parte dos consumidores em relação aos corantes alimentares, com isso o carmin de cochonilha vem recebendo críticas em decorrência de sua origem animal, ou seja, não-vegana, além de possuir certo teor de alumínio em sua composição e por alguns consumidores ao saberem que são obtidos a partir de insetos se sentem nauseados. (SCHWEIGGERT, 2018; MÜLLER-MAATSCH; GRAS, 2016).

As betalaínas são uma opção em substituição ao uso do carmin de cochonilha, visto sua coloração semelhante, avermelhada. Esse pigmento natural é um dos quatro mais importantes pigmentos com origem vegetal que podem ser utilizados como corante natural em alimentos (ESQUIVEL, 2016). São bastante eficazes quando utilizadas como corantes naturais, além de apresentar vantagens diante de outros, como serem hidrossolúveis; alto poder corante, sendo três vezes mais potente que as antocianinas (SORIANO-SANTOS et al., 2007; POLTURAK; AHARONI, 2018). Alguns fatores podem promover sua instabilidade, principalmente luz e altas temperaturas, como citado anteriormente (HERBACH; STINTZING; CARLE, 2006).

O pigmento da betalaína é comumente associado à beterraba vermelha, que apresenta

valores consideráveis deste composto. Mesmo possuindo origem natural, corantes obtidos de beterrabas podem transmitir sabores indesejáveis, pois sua composição é rica em nitratos, pirazínicos e geosmina, que trazem sabor residual terroso, tornando desagradável se adicionado em alguns alimentos (SANTOS et al., 2016; SIGURDSON; TANG; GIUSTI, 2017; STINTZING; CARLE, 2007). A pitaia (*Hylocereus polyrhizus*) também possui esse pigmento, podendo ser usado como fonte de obtenção do corante de betalaína (LIRA et al, 2020). Alguns métodos podem ser utilizados na obtenção de corantes de betalaínas, como: ultrassom, extração aquosa, microndas, separação por membranas, dentre outros (AKBAR HUSSAIN; SADIQ; ZIA-UL-HAQ, 2018).

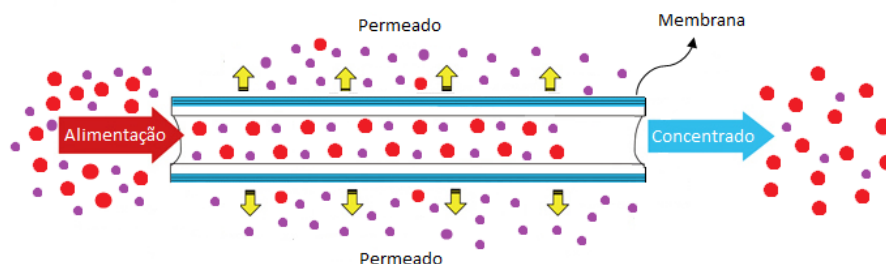
## **2.5. Separação por membrana: Microfiltração**

Os processos de separação por membranas ocorrem por meio da permeabilidade do meio filtrante a compostos presentes no material a ser processado, necessitando de aplicação de uma força para que ocorra a separação (CRUZ, 2008). Os principais métodos de separação são: microfiltração, ultrafiltração, nanofiltração, osmose reversa e diálise (VERGARA et al., 2015). Os três primeiros tem funcionamento semelhante ao processo de filtração e ocorrem de acordo com tamanho das partículas; os outros dois baseiam-se na retenção de moléculas de baixa massa molecular e em diferença de concentração, respectivamente (CORRÊA, 2016).

A microfiltração utiliza membranas com poros em torno de 0,1 e 10  $\mu\text{m}$  (100 e 10.000 nm), sendo capazes de reter partículas em suspensão e bactérias. Usam barreiras artificiais seletivas com objetivo de separar partículas de tamanhos diferentes. As membranas podem ser fabricadas de vários materiais como polímeros, cerâmica ou metal (CRUZ, 2008; VERGARA et al., 2015).

De acordo com que há alimentação do material a ser filtrado, na membrana, a força motriz, aplica um gradiente de pressão e faz com que as partículas se desloquem tangencialmente, desta forma as menores penetram na membrana e transpassam para o outro lado, sendo chamado de permeado, e o que fica na membrana sem transpassa-la é chamado de retido ou retentado ou concentrado tendo partículas maiores que as do permeado (CORRÊA, 2016). Pode-se observar como isso acontece na Figura 4.

Figura 4. Processo de filtração por membrana, representação do permeado e retido.



Fonte: Corrêa (2016)

O fluxo de permeado ( $J_p$ ), ou seja, a velocidade com que está ocorrendo a microfiltração é medida através da fórmula  $J_p = m / (\rho t A)$ , onde “m” refere-se a massa de amostra de permeado, “ $\rho$ ” é a massa específica da água, “t” é o tempo em que os dados foram coletados e o A está relacionado a área efetiva de filtração da membrana (VERGARA et al., 2015).

Vários pontos podem ser citados como vantagens em sua aplicação como: promovem gasto energético baixo, pois, a quantidade de energia necessária para seu funcionamento é pouca; podem ser usadas combinadas com outros processos; são fáceis de usar; não necessitam de adição de agentes químicos e os processos são realizados em temperaturas baixas, permitindo manter componentes termosensíveis (CORRÊA, 2016; CRUZ, 2008; CASSANO, CONIDI, DRIOLI, 2010). O processo também apresenta algumas desvantagens, como custo elevado para repor membrana e redução do fluxo de permeado com o passar do processo (CRUZ, 2008). Utiliza-se quando há necessidade ou desejo de obter um produto sem promover alterações significativas nas propriedades sensoriais e nutricionais (CORRÊA, 2016; MATTA, CABRAL, SILVA, 2004). Cruz (2008) avaliou o efeito desse tratamento com membranas, em relação a compostos bioativos e atividade antioxidante em açaí e observou que realmente mantem esses compostos semelhantes ao fruto *in natura*. De forma semelhante, Vergara et al. (2015) conseguiram obter um suco de pera de cacto roxo com elevado teor de fenólicos e betalainas, apresentando também atividade antioxidante.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Matéria-prima

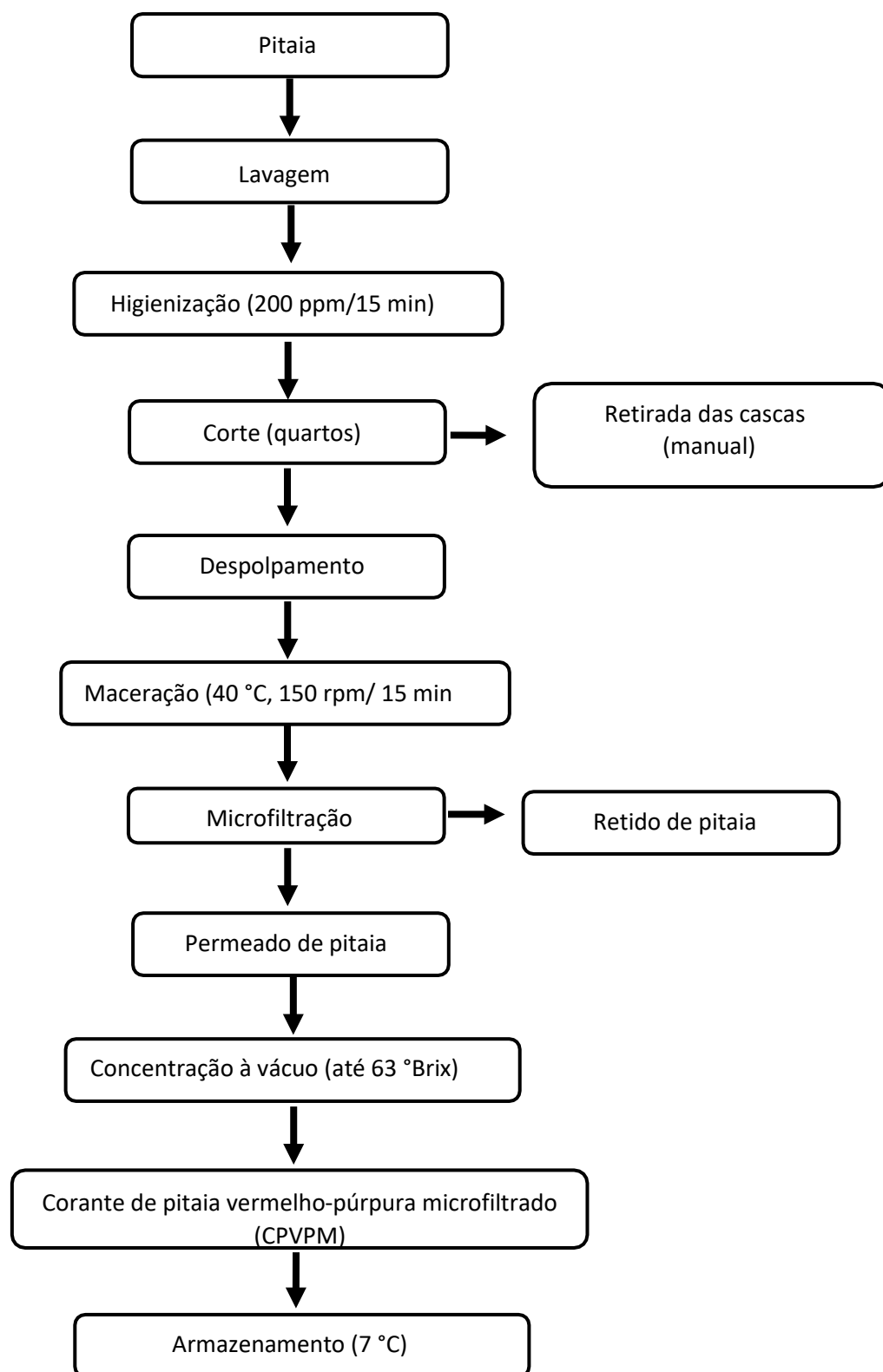
Os frutos de pitaia maduros (*Hylocereus polyrhizus* (F.A.C. Weber) Britton & Rose) foram fornecidos pela Frutacor, localizada no Vale do Jaguaribe, Ceará, Brasil (05 ° 53'26 " S; 38 ° 37'19 " W), em seguida transportados para a Embrapa Agroindústria Tropical, armazenados em câmara de refrigeração a 7°C ( $\pm$  2°C) até que houvesse o processamento. Os frutos foram lavados, em água corrente, para retirada de resíduos e posteriormente foram higienizados (200 ppm de água clorada por 15 minutos).

#### 3.2. Obtenção do corante de pitaia vermelho-púrpura microfiltrado (CPVPM)

As etapas para obtenção do corante de pitaia vermelho-púrpura microfiltrado (CPVPM) estão descritos no fluxograma da Figura 5. Inicialmente os frutos foram cortados em quartos, juntamente com a casca, que foram removidas manualmente. O despulpamento foi realizado em despulpadeira (marca Itametal, Bonina 0,25 df), onde os frutos descascados foram coados através de uma peneira (1 mm), separando polpa e semente (SANTOS et al., 2020).

O corante de pitaia vermelho-púrpura microfiltrado (CPVPM) foi produzido na planta piloto de processamento de alimentos do Laboratório de Processos Agroindustriais da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, Ceará - Brasil. Para isso, a polpa de pitaia foi tratada com Pectinex® Ultra AFP (2000 mg L<sup>-1</sup>, tratado a 40 °C, durante 45 min a 150 rpm), em Shaker (Marca New Brunswick™ Innova® 44, modelo Incubador Shaker Series), em seguida a enzima foi inativada a 80 °C por 5 minutos (adaptado de 'ALIAA; MAZLINA; TAIP, 2009). A polpa foi filtrada através de um sistema de microfiltração composto por quatro módulos de membrana cerâmica tubular dispostos em série (indústria Pall, modelo Membralox, Saint-Germain-en-Laye, França) (0,2 µm de diâmetro dos poros). Depois, a parte permeada foi concentrada até 63 °Brix em concentrador a vácuo (Tecnint). A temperatura de evaporação foi de 40  $\pm$  5 °C, pressão de vácuo de 700 mmHg. O CPVPM foi acondicionado em garrafas de vidro transparente de 150 mL e armazenado a 7 °C ( $\pm$  2 °C) e submetido a análises específicas.

Figura 5. Fluxograma de obtenção de corante de pitaia vermelho-púrpura microfiltrado.



Fonte: Elaborado pela autora.

### 3.3. Métodos de Análises

#### 3.3.1. Composição centesimal

##### 3.3.1.1. Proteínas

O teor de proteínas foi determinado pelo método Dumas (VELP Científica, modelo Dumas NDA 702). O método consiste na determinação de nitrogênio e proteína através da combustão da amostra, ocorrendo a redução, separação e detecção das substâncias analisadas.

##### 3.3.1.2. Lipídios

O conteúdo lipídico total foi determinado pelo método Am 5-04 (AOCS, 2005; ANKOM, 2009) utilizando o sistema de extração de alta pressão e alta temperatura em equipamento automático analisador de gordura (ANKOM, modelo XT15).

##### 3.3.1.3. 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, 2016).

##### 3.3.1.4. Umidade

Seguiu-se o método 934.01 (AOAC, 2016), onde as amostras foram colocadas em cadinhos de porcelana e levados à estufa com circulação de ar em temperatura de 70 °C ± 5 °C, para remoção de água por aquecimento.

##### 3.3.1.5. 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 proteínas, lipídeos, cinzas e umidade (AOAC, 2005), seguindo a equação abaixo:

$$\text{Carboidratos\%} = 100 - (\text{Proteínas\%} + \text{Cinzas\%} + \text{Umidade\%} + \text{Lipídios\%}) \quad (\text{Eq. 1})$$

#### 3.3.2. Análise de minerais

As amostras foram digeridas seguindo os procedimentos descritos por Miyazawa et al. (2009) com algumas modificações. Uma alíquota (1,0 g) foi colocada em um tubo de digestão

e reagiu por toda a noite com ácido nítrico e ácido perclórico (3: 1 v/v). A digestão foi realizada utilizando um bloco seco do digestor a 200 ° C por 4h. Após o resfriamento, o volume foi completado até 50 mL com água deionizada e filtrado através de um papel de filtro quantitativo. Os brancos foram preparados de maneira semelhante às amostras. As digestões foram analisadas por espectrometria de emissão óptica de plasma acoplada indutivamente (Agilent, modelo 5100, Mulgrave, Austrália) para fósforo, potássio, cálcio, magnésio, enxofre, sódio, cobre, ferro, zinco e manganês.

### **3.3.3. Atividade de água (Aw)**

A atividade de água (aw) foi medida a 25 °C usando um medidor de atividade de água (Aqualab Decagon Devices Inc. Pullman, modelo Pawkit, Washington, EUA).

### **3.3.4. Sólidos solúveis**

O teor de sólidos solúveis foi determinado utilizando um refratômetro digital (Atago, modelo Pocket PAL-3, Tóquio, Japão) a 20 °C. Os resultados foram expressos em °Brix, conforme recomendado por AOAC (2016).

### **3.3.5. Colorimetria**

A cor foi medida em um colorímetro (HunterLab, modelo ColorQuest XE, Virginia, EUA), através do método de reflexão especular exclusiva, com resultados baseados em três coordenadas de cores: L \* (claro/escuro), a \* (vermelho/verde) e b \* (amarelo/azul). Os resultados também foram expressos como diferencial de cor ( $\Delta E$ ), calculado de acordo com a Eq. (1), de acordo com Mokrzycki e Tatol (2011):

$$\Delta E = ((\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2)^{1/2} \quad (\text{Eq. 2})$$

### **3.3.6. Potencial hidrogeniônico (pH)**

Determinou-se a partir de leitura em medidor de pH digital (Mettler Toledo, modelo F20, Ohio, EUA) calibrado com soluções tampão de pH 4,0 e 7,0 (AOAC, 2016).

### **3.3.7. Acidez titulável**

Utilizou-se 0,5 g de amostra diluída em 50 mL de água destilada. Com o auxílio do potenciômetro titulométrico automático (Hanna Instruments, modelo HI90C1-02, Romênia),

foi titulado com NaOH 0,1 N até pH 8,1. A acidez foi determinada de acordo com o método da AOAC (2005) e expressa em gramas de ácido málico por 100 g de amostra.

### 3.3.8. Polifenóis extraíveis totais (PET)

Para a obtenção do extrato utilizado na análise de polifenóis realizaram-se adaptações do método descrito por Obanda, Owuor, Taylor (1997). Pesou certa quantidade de amostra e adicionou-se 4 mL de metanol 50%, homogeneizou-se e deixou-se em repouso por 60 minutos à temperatura ambiente. Depois de decorrido o tempo centrifugou-se a 15.000 rpm por 15 minutos, e transferiu-se o sobrenadante para um balão volumétrico de 10 mL. A partir do resíduo da primeira extração, adicionou-se 4 mL de acetona 70%, e repetiu-se o processo anterior, transferindo o sobrenadante para o balão volumétrico contendo o primeiro sobrenadante e completou-se o volume para 10 mL com água destilada.

Aliquota de 0,5 mL de cada extrato, 0,5 mL do reagente Folin-Ciocalteu (1:3), 1 mL de NaCO<sub>3</sub> 20% e 1 mL de água destilada foram tomadas e inseridas, em tubos de ensaio. Rodo o conteúdo foi homogeneizado, deixado em repouso por 30 minutos e em seguida realizada leitura da absorbância em espectrofotômetro a 700 nm, usando como referencia curva padrão de ácido gálico. Os resultados foram expressos como µg equivalente de ácido gálico (GAE) por g de amostra.

### 3.3.9. Estudo do perfil químico

#### 3.3.9.1. Análises UPLC-ESI-QTOF-MS<sup>E</sup>

A análise UPLC-ESI-QTOF-MS<sup>E</sup> foi realizada usando um sistema Acquity UPLC-QTOF-MS (Xevo™, Waters®, Milford, MA, EUA) com uma fonte de ionização por eletropulverização (ESI). As fases móveis foram água com ácido fórmico a 0,1% (A) e acetonitrila com ácido fórmico a 0,1% (B). O gradiente foi de 0 a 15 minutos, 2 a 95% de B; 15,1-17 min, 100% de B; 17,1-19,1 min, 2% B. Uma coluna Waters Acquity UPLC BEH (150 × 2,1 mm, 1,7 µm) com taxa de fluxo de 0,4 mL min<sup>-1</sup> foi mantida a 40 °C. O volume de injeção da amostra foi de 5 µL. As condições foram as seguintes: modo de ionização negativa; faixa de aquisição: 110-1180 Da; temperatura da fonte: 120 °C; temperatura do gás de dessolvatação: 350 °C; fluxo de gás de dessolvatação: 500 L h<sup>-1</sup>; tensão do cone de extração: 0,5 V; tensão capilar: 2,6 kV; modo de aquisição por MS<sup>E</sup>. Encefalina de leucina foi usada como massa de bloqueio. O equipamento foi controlado pelo software Masslynx 4.1 (Waters® Corporation).



### 3.3.9.2. Análise quimiométrica de dados de UPLC-QTOF-MS<sup>E</sup>

O processamento dos dados foi realizado antes da análise estatística para todos os dados UPLC-QTOF-MS<sup>E</sup> obtidos usando o software MarkerLynx XS (Waters Corporation) e o software MetaboAnalyst 4.0 (CHONG, WISART, XIA, 2019). Para coleta de dados para alinhamento, deconvolução e obtenção da matriz de dados centralizada foi utilizado o software MarkerLynx XS. Para tanto, os parâmetros do método foram definidos como o intervalo de tempo de retenção (tR, 0,55 a 12,0 min) e o intervalo de massa (110 a 800 Da).

Para análise dos dados, uma matriz de dados contendo os picos detectados foi gerada usando pares de dados de massa (m/z) e tempo de retenção (tR) como identificadores para cada pico (tR-m/z), bem como a intensidade dos picos, nomes das amostras e grupos em que estão contidos (CPVPMT0, CPVPMT1, CPVPMT2 e CPVPMT3). As estruturas identificadas nos picos foram tentativamente identificadas com base no valor exato da massa (fórmula molecular) e fragmentos de massa típicos relatados na literatura. Todas as pesquisas bibliográficas na busca de metabólitos de pitáia foram baseadas na quimiotaxonomia de *Hylocereus polyrhizus* (F.A.C. Weber) Britton & Rose, na qual são considerados o gênero, a família e as espécies.

A matriz de dados foi submetida ao software MetaboAnalyst no formato (.csv), onde a filtragem de dados foi aplicada usando desvio padrão (DP) para evitar que ruído e variáveis com baixa intensidade influenciassem negativamente os resultados (LUZ et al., 2018). As intensidades de íons foram normalizadas por transformação logarítmica e escalonadas através da escala de Pareto (centrada na média e dividida pela raiz quadrada de DP de cada variável) para tornar as características individuais mais comparáveis. Posteriormente, métodos quimiométricos não supervisionados foram aplicados, ou seja, análises que não requerem conhecimento prévio sobre a natureza das amostras, que são capazes de fornecer agrupamentos do conjunto amostral com base na similaridade das variáveis envolvidas no estudo, tornando-o possível identificar semelhanças e diferenças entre os grupos obtidos.

A primeira etapa da análise multivariada consistiu na aplicação da Análise Hierárquica de Cluster (HCA), que se baseia na redução da dimensionalidade dos dados, para obter agrupamento entre amostras contendo variáveis semelhantes. Em seguida, foi realizada uma análise de séries temporais, com base na visualização da formação de padrões significativos envolvendo amostras analisadas em diferentes períodos de armazenamento. Para este último, foram utilizadas a análise interativa de componentes principais (iPCA) e a análise bidirecional de heatmap (Heatmap2). O algoritmo de Ward e a distância euclidiana foram utilizados para as ferramentas HCA e Heatmap, respectivamente, para analisar o conjunto de dados. A aplicação

dos métodos quimiométricos foi limitada aos metabólitos identificados provisoriamente entre 0 min e 10,5 min.

### **3.3.10. Análises microbiológicas**

As análises microbiológicas foram realizadas no Laboratório de Microbiologia de Alimentos da Embrapa Agroindústria Tropical. Os parâmetros microbiológicos de segurança foram definidos com base na Instrução Normativa N° 46/2007 do MAPA, considerando a aplicação do produto (BRASIL, 2007). A contagem de aeróbios mesófilos, bolores e leveduras foi avaliada de acordo com Tournas et al. (2001). A presença de coliforme total e *Escherichia coli* nas amostras foi avaliada de acordo com Feng et al. (2013). As análises foram realizadas de acordo com a metodologia descrita no Manual Analítico Bacteriológico da FDA.

### **3.3.11. Estabilidade de armazenamento do CPVPM refrigerado**

Os efeitos do armazenamento na estabilidade do CPVPM, armazenado a  $7 \pm 2$  °C, foram realizadas as seguintes análises: atividade da água, sólidos solúveis, cor ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  e  $\Delta E$ ), pH, acidez titulável, polifenóis totais, perfil fenólico por UPLC-ESI-QTOF-MS<sup>E</sup> e análises microbiológicas (conforme itens 4.3.3, 4.3.4, 4.3.5, 4.3.6, 4.3.7, 4.3.8, 4.3.9 e 4.3.10, respectivamente). Todas as análises foram realizadas após o processamento (T0, representando o dia zero) e a cada 4 semanas, por um período de 12 semanas (T1, após decorrido 4 semanas, T2, após 8 semanas e T3, após 12 semanas do processamento).

### **3.3.12. Análise sensorial**

#### *3.3.12.1. Grupo focal*

O grupo focal foi utilizado para obter sugestões para aplicações do corante de pitaia vermelho-púrpura microfiltrado (CPVPM) em matrizes alimentares. O teste foi realizado de acordo com Dutcosky (2013), em duas sessões, com oito e dez participantes, respectivamente, com idades entre 18 e 25 anos, recrutados a partir do envolvimento com áreas correlatas, como gastronomia, ciência de alimentos ou engenharia de alimentos. Um moderador e um auxiliar também participaram, e as discussões foram gravadas em áudio. As sugestões foram descritas pelos participantes para a aplicação do CPVPM. No final, as aplicações alimentares mais frequentes foram selecionadas para aplicação em um produto teste.

### 3.3.12.2. Testes afetivos de iogurte com CPVPM

Um iogurte natural comercial foi utilizado para aceitação sensorial, conforme definido no grupo focal. Mediante testes preliminares, foi adicionado ao iogurte natural 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0% do CPVPM (denominada Formulações A, B, C e D, respectivamente). Os testes foram realizados com 51 participantes, não treinados e com idades variando entre 18 e 55 anos, e 4 amostras apresentadas seguindo delineamento (MACFIE et al., 1989). O protocolo sensorial foi aplicado de acordo com Meilgaard, Civille e Carb (2016) e previamente aprovado pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP (nº 3.117.036). A degustação das amostras foi realizada em cabines individuais climatizadas (24 °C), sob iluminação controlada (luz branca, fluorescente). As amostras foram servidas a  $10 \pm 2$  °C, em copos descartáveis codificados com números aleatórios de três dígitos (WALKELING e MACFIE, 1995) e apresentados em ordem balanceada de forma a evitar vícios nos resultados (MACFIE et al., 1989).

Para o teste sensorial da cor, as amostras foram apresentadas em placas de petri (9 cm de diâmetro), dispostas individualmente em uma bandeja, codificadas com números aleatórios de 3 dígitos, sobre uma bancada em área comum a todos os julgadores, sob iluminação controlada (luz branca, fluorescente) para melhor visualização.

Os julgadores foram solicitados a avaliar as amostras através dos seguintes testes descritos abaixo:

(a) Escala do ideal. Os participantes do painel expressaram sua opinião sobre o que pensavam ser a cor ideal, usando uma escala de 7 pontos (1 = extremamente menos intensa que o ideal, 4 = ideal e 7 = extremamente mais intensa que o ideal). Neste teste, foram incluídas duas amostras diferentes do iogurte comercial (marcas comerciais escolhidas com base no mercado consumidor local), totalizando 7 formulações (Formulação E, iogurte comercial contendo corante de beterraba e Formulação F, iogurte comercial contendo corante de carmim);

(b) Testes de aceitação e preferência de cor e aroma. As quatro formulações (A, B, C e D) que continham o CPVPM foram submetidas a testes de aceitação do aroma e cor, utilizando escalas hedônicas estruturadas de 9 pontos (1 = 'desgostei muitíssimo', 5 = 'nem gostei, nem desgostei' e 9 = 'gostei muitíssimo') (PERYAM e PILGRIM, 1957). Além disso, os membros do painel classificaram as amostras em ordem de preferência em relação à cor (teste de ordenação preferência). Nessa mesma sessão os julgadores avaliaram a intensidade de sabor residual, ou seja, qualquer sabor não característico de um iogurte natural usando uma escala não estruturada de 9 cm (0 = "nenhum" a 9 = "forte").

(c) Teste de intenção de compra. Uma escala estruturada de 5 pontos (1 = "certamente não compraria" a 5 = "certamente compraria") foi usada para avaliar a atitude dos consumidores em comprar o produto, se ele estivesse à venda.

### 3.3.12.3. *Testes de diferença*

O teste triangular foi usado para avaliar se os julgadores do painel perceberiam alguma diferença no aroma entre os iogurtes formulados com CPVPM e o controle (iogurte comercial de morango). Apenas duas formulações foram testadas, C e D, por serem as formulações com maior adição de CPVPM.

### 3.3.12.4. *Compostos voláteis de iogurte formulados com CPVPM*

Os compostos voláteis presentes nas formulações de iogurte CPVPM (amostras A – D) e o controle foram comparados. Para isso, foram adicionados 1,20 g de NaCl a 4 g de cada material testado. Foi utilizado o método descrito por Dan et al. (2017), com adaptações. Antes das análises, a fibra foi condicionada de acordo com a temperatura recomendada pelo fabricante. As amostras foram agitadas por 5 min a 50 °C para o equilíbrio dos compostos voláteis. Após isso, os compostos voláteis foram isolados da matriz por microextração em fase sólida de headspace (HS-SPME), usando fibra DVB/CAR/PDMS 50/30 µm 1 cm (Supelco, Bellefonte, PA, EUA) por 60 min a 50 °C. A fibra foi então inserida imediatamente na porta de injeção (modo sem divisão) de um GC 7890 B (Agilent Technologies, Inc., Palo Alto, CA, EUA), equipado com detector de espectrômetro de massa, modelo 5977A. A coluna cromatográfica utilizada foi Rtx-5MS (tamanho de 30 m, diâmetro interno de 0,25 mm, espessura do filme de 0,25 µm). O hélio foi utilizado como gás transportador a 1 mL / min. A temperatura do forno do GC foi inicialmente mantida a 40 °C por 5 min e elevada gradativamente a uma taxa de 4 °C / min até 140 °C, permanecendo por 5 min, a 10 °C / min até 200 °C, permanecendo por 5 minutos e a 10 °C / min até 270 °C, permanecendo por mais 5 minutos. A temperatura da interface entre o cromatógrafo e o detector de massa seletiva foi de 270 °C e a ionização foi realizada por impacto eletrônico (70 eV) com a fonte de íons mantida a 150 °C.

### 3.3.12.5. *Caracterização de iogurte natural comercial (controle) e iogurte com o corante*

Para apoiar os resultados indicados pela análise sensorial e caracterização dos

produtos, foram realizadas as análises químicas e físico-químicas com iogurte natural comercial (controle) e com o CPVPM, como segue: cor (coordenadas  $L^*$ ,  $a^*b^*$  e  $\Delta E$ ), pH e acidez titulável. Todas as análises foram descritas nos itens 4.3.5, 4.3.6 e 4.3.7, respectivamente.

### **3.3.13. Análise estatística**

Os dados das áreas de pico dos compostos voláteis, obtidos por cromatogramas, foram normalizados pela soma tratada e escalonada de acordo com o Auto scaling. A análise quimiométrica usando o Metaboanalyst 3.0 ([www.metaboanalyst.ca](http://www.metaboanalyst.ca)), foi realizada com base nas matrizes de correlação dos dados normalizados.

Os demais resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) a 5% de significância ( $p < 0,05$ ) pelo teste F e teste de Tukey para comparações múltiplas ( $p < 0,05$ ), utilizando o software XLSTAT (versão 18.01, Nova York, NY, EUA).

## **4. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **4.1. Caracterização do corante de pitaia vermelho-purpura microfiltrado (CPVPM)**

A média do fluxo obtido durante o processo de microfiltração para obtenção do CPVPM foi de  $57,6 \pm 1,9 \text{ L h}^{-1} \text{ m}^{-2}$ . As características do CPVPM estão apresentadas na Tabela 3. O produto apresentou baixos valores de pH ( $3,88 \pm 0,01$ ), acidez ( $1,61 \pm 0,03\%$ ), umidade ( $38,15 \pm 0,62\%$ ) e atividade de água ( $a_w$ ) de 0,82. De acordo com Beuchat et al. (2013), alimentos com  $a_w < 0,85$  são considerados alimentos de baixa  $a_w$ , considerando que o valor de  $a_w$  mínimo para o crescimento da maioria das bactérias é de  $\sim 0,87$ . Esse resultado está relacionado ao maior teor de sólidos solúveis ( $63,10 \pm 0,08$  °Brix). Além disso, o CPVPM contém baixas concentrações de proteína ( $1,31 \pm 0,04\%$ ), lipídios ( $0,17 \pm 0,01\%$ ), cinzas ( $2,06 \pm 0,28\%$ ) e alto teor de carboidratos ( $58,32 \pm 0,02\%$ ). Esses resultados estão de acordo com os relatados por Khalili et al. (2011) e Chik, Bachok, Babaet (2011) que avaliaram a polpa de pitaia e obtiveram teores de proteínas, lipídios, cinzas e carboidratos na faixa de 0,16 a 5,2%, 0,23 a 0,1%, 0,70 a 4,1% e 1,48 a 90,60%, respectivamente. A variação nessas concentrações é atribuída às cultivares utilizados, fatores fisiológicos (por exemplo, idade da planta) e condições de colheita e pós-colheita.

Tabela 3. Caracterização de corante de pitáia vermelho-púrpura microfiltrado (CPVPM).

<i>Características</i>	<i>Conteúdo</i>
<i>Composição centesimal (%)</i>	
Proteína	1,31 ± 0,04
Umidade	38,15 ± 0,62
Cinzas	2,06 ± 0,28
Lipídios	0,17 ± 0,01
Carboidratos	58,32 ± 0,02
<i>Características gerais</i>	
<i>L*</i>	0,53 ± 0,03
<i>a*</i>	1,20 ± 0,08
<i>b*</i>	0,2 ± 0,10
$\Delta E$	31,85
pH	3,88 ± 0,01
Acidez (% ácido málico)	1,61 ± 0,03
Sólidos solúveis (°Brix)	63,10 ± 0,08
Fenólicos totais (GAE 100 g <sup>-1</sup> )	118,57 ± 0,42
Aw	0,82 ± 0,01
<i>Composição mineral</i>	
Fósforo (g kg <sup>-1</sup> )	1,02 ± 0,05
Potássio (g kg <sup>-1</sup> )	14,31 ± 0,5
Cálcio (g kg <sup>-1</sup> )	0,41 ± 0,02
Magnésio (g kg <sup>-1</sup> )	1,47 ± 0,06
Enxofre (g kg <sup>-1</sup> )	0,14 ± 0,01
Sódio (g kg <sup>-1</sup> )	0,22 ± 0,01
Cobre (mg kg <sup>-1</sup> )	2,75 ± 0,5
Ferro (mg kg <sup>-1</sup> )	9,75 ± 0,5
Zinco (mg kg <sup>-1</sup> )	8,00 ± 0,01
Manganês (mg kg <sup>-1</sup> )	6,00 ± 0,01

Fonte: Dados da pesquisa.

Dentre esses minerais, o potássio está presente em maior concentração. Esse mineral reduz a pressão arterial e os riscos de doenças cardiovasculares, derrames e doenças coronárias em adultos. A Organização Mundial da Saúde (WHO, 2012) recomenda a ingestão de potássio de pelo menos 3,51 g por dia para adultos. Como o nível de potássio no CPVPM é considerado alto, faz-se necessário utilizar uma menor concentração de CPVPM nos alimentos. No entanto, em decorrência da quantidade usada ser pequena, o CPVPM tem pouco impacto na quantidade

mineral do produto final ao qual é adicionado.

No perfil metabólico da CPVPM, os dados cromatográficos e MS de UPLC-QTOF-MS<sup>E</sup> obtidos estão apresentados juntamente com o tempo de retenção, massa teórica, fórmula molecular, massa observada, MS e fragmentos de MS/MS na Tabela 4. No total, doze compostos foram identificados como carboidratos, flavonoides e betalaínas (2, 3 e 7, respectivamente). Entre as betalaínas, as betacianinas são do alvo de nosso estudo, pois são responsáveis pela cor do CPVPM. Os dados para cada composto identificado são discutidos no item 5.2.

Tabela 4. Dados cromatográficos e de espectrometria de massa de UPLC-Q-TOF-MSE de corante pitaia vermelho-púrpura microfiltrado obtidos por UPLC-QTOF-MSE no íon modo positivo.

n°	t <sub>R</sub> (min)	Íon modo positivo (MS)				Fragmentos (MS <sup>2</sup> )	Fórmula Molecular	Tentativa de identificação	Corante de pitaia vermelho-púrpura microfiltrado (CPVPM)				Referência
		Adução	Observado	Calculado	Erro de massa				T	T	T	T	
									0	1	2	3	
1	0,82	[M+K+H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup>	399,0892	399,0901	-2,25	219,0219	C <sub>12</sub> H <sub>24</sub> O <sub>12</sub>	Sacarose (Dissacarídeo)	+	+	-	-	Lira et al. (2020), Wei et al. (2019)
						203,0533							
						705,1832							
						543,1473							
2	0,88	[M+H] <sup>+</sup>	667,2301	667,2297	0,60	399,0977	C <sub>24</sub> H <sub>42</sub> O <sub>21</sub>	Maltotetraose ou Staquiiose (Tetrassacarídeo)	+	+	-	-	Lira et al. (2020), Wei et al. (2019), Dasaesamoh et al. (2016), Wichienchot et al. (2010)
						219,0278							
						203,0563							
						163,0628							
3	0,99	M <sup>+</sup>	637,1524	637,1517	1,10	549,1821	C <sub>27</sub> H <sub>29</sub> N <sub>2</sub> O <sub>16</sub> <sup>+</sup>	Filocactina	+	+	-	-	Lira et al. (2020), Wybraniec et al. (2010)
						551,1431							



						389,1003							
<b>4</b>	2,00	[M+H] <sup>+</sup>	551,1513	551,1513	0,00	389,0239	C <sub>24</sub> H <sub>26</sub> N <sub>2</sub> O <sub>13</sub>	Betanina	+	+	-	-	Wybraniec et al. (2010)
						551,1537							
<b>5</b>	2,40	[M+H] <sup>+</sup>	637,1516	637,1517	-0,16	593,1633	C <sub>27</sub> H <sub>28</sub> N <sub>2</sub> O <sub>16</sub>	Filocactina isômero	+	+	-	-	Lira et al. (2020), Wybraniec et al. (2010)
						389,1049							
						345,1081							
						551,1537							
<b>6</b>	2,47	[M+H] <sup>+</sup>	637,1500	637,1517	-2,67	389,1049	C <sub>27</sub> H <sub>28</sub> N <sub>2</sub> O <sub>16</sub>	Filocactina isômero	+	+	-	-	Lira et al. (2020), Wybraniec et al. (2010)
						345,0939							
						637,1536							
<b>7</b>	2,55	[M+H] <sup>+</sup>	769,1943	769,1939	0,52	593,1502	C <sub>32</sub> H <sub>37</sub> N <sub>2</sub> O <sub>20</sub> <sup>+</sup>	Apiosil-malonil- betanina	+	+	-	-	Lira et al. (2020), Wybraniec et al. (2010)
						505,1563							
						389,1519							
						593,1673							Lira et al. (2020),
<b>8</b>	3,06	[M+H] <sup>+</sup>	593,1618	593,1619	-0,16	389,1040	C <sub>26</sub> H <sub>29</sub> N <sub>2</sub> O <sub>14</sub> <sup>+</sup>	6'-Malonil-2'- descarboxy-betanina isômero	+	-	-	-	García-Cruz et al. (2017), Imtiyaj Khan and Giridhar (2015)
						345,1129							

<b>9</b>	3,11	M <sup>+</sup>	593,1618	593,1619	-0,16	549,1821 345,1600	C <sub>26</sub> H <sub>29</sub> N <sub>2</sub> O <sub>14</sub> <sup>+</sup>	6'-Malonil-2'- descarboxy-betanina	+	+	-	-	Lira et al. (2020), García-Cruz et al. (2017), Imtiyaj Khan and Giridhar (2015)
<b>10</b>	3,59	[M+H] <sup>+</sup>	465,0962	465,0954	1,72	303,1009	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>12</sub>	Quercetina-3- <i>O</i> - hexosídeo	+	+	-	-	Lira et al. (2020), Amaya-Cruz et al. (2019)
<b>11</b>	4,16	[M+H] <sup>+</sup>	303,0505	303,0504	0,33	-	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>7</sub>	Quercetina	+	+	-	-	Yi et al. (2011) Adnan et al. (2011)
<b>12</b>	4,39	[M+H] <sup>+</sup>	415,1605	415,1604	0,2	-	C <sub>19</sub> H <sub>26</sub> O <sub>10</sub>	Desconhecido					
<b>13</b>	4,50	[M+H] <sup>+</sup>	287,0566	287,0556	3,48	-	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>	Luteolina	+	+	-	-	Cohen, Fait and Tel- Zur (2013)
<b>14</b>	7,51	[M+H] <sup>+</sup>	279,1189	279,1192	-1,1	-	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> N <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	Desconhecido	+	+	-	-	Liaotrakoon et al. (2013)
<b>15</b>	7,81	[M+Na] <sup>+</sup>	279,0966	279,0970	0,4	119,0543	C <sub>11</sub> H <sub>15</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	Desconhecido	+	+	-	-	
<b>16</b>	8,22	[M+H] <sup>+</sup>	279,1011	279,1021	-1,0	-	C <sub>18</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub>	Desconhecido	+	+	-	-	
<b>17</b>	8,30	[M+H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup>	274,2744	274,2746	-0,72	256,2635	C <sub>16</sub> H <sub>36</sub> NO <sub>2</sub>	Desconhecido	-	+	+	-	
<b>18</b>	9,11	[M+H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup>	358,3328	358,3321	1,95	340,3225	C <sub>21</sub> H <sub>43</sub> NO <sub>3</sub>	Desconhecido	-	+	+	+	

<b>19</b>	9,27	[M+H] <sup>+</sup>	403,2638	403,2637	0,2	239,1468	C <sub>28</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	Desconhecido	-	+	+	-
<b>20</b>	9,56	[M+H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup>	302,3058	302,3059	-0,33	284,2951	C <sub>18</sub> H <sub>40</sub> NO <sub>2</sub>	Desconhecido	-	+	-	-
<b>21</b>	9,86	[M+Na] <sup>+</sup>	473,3144	473,3144	0,00	437,1980	C <sub>29</sub> H <sub>41</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Desconhecido	-	+	+	-

---

CPVPMT0: após o processamento; CPVPMT1: após 4 semanas de armazenamento; CPVPMT2: após 8 semanas de armazenamento e CPVPMT3: após 12 semanas de armazenamento.

#### 4.1. Estabilidade microbiológica, físico-química e química do CPVPM armazenado sob refrigeração

A Tabela 5 mostra a estabilidade microbiológica, físico-química e química do CPVPM armazenado sob refrigeração a  $7 \pm 2$  °C por doze semanas.

Tabela 5. Efeitos do armazenamento nas características físico-químicas, químicas e microbiológicas do corante pitaia vermelho-púrpura microfiltrado (CPVPM).

Características	CPVPMT0	CPVPMT1	CPVPMT2	CPVPMT3
<i>Físico-químicas e químicas</i>				
pH	3,88 ± 0,01 <sup>b</sup>	3,89 ± 0,01 <sup>b</sup>	3,96 ± 0,01 <sup>a</sup>	3,85 ± 0,02 <sup>c</sup>
Acidez (% ácido málico)	1,61 ± 0,03 <sup>b</sup>	1,82 ± 0,07 <sup>a</sup>	1,87 ± 0,05 <sup>a</sup>	1,79 ± 0,01 <sup>a</sup>
Sólidos solúveis (°Brix)	63,1 ± 0,08 <sup>a</sup>	63,03 ± 0,04 <sup>a</sup>	63,17 ± 0,04 <sup>a</sup>	62,57 ± 0,18 <sup>b</sup>
Fenólicos totais (GAE 100g <sup>-1</sup> )	118,57 ± 0,42 <sup>a</sup>	72,9 ± 0,89 <sup>b</sup>	68,79 ± 0,45 <sup>c</sup>	56,3 ± 0,99 <sup>d</sup>
<i>L</i> *	0,53 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,57 ± 0,04 <sup>a</sup>	0,58 ± 0,03 <sup>a</sup>	0,55 ± 0,04 <sup>a</sup>
<i>a</i> *	1,24 ± 0,07 <sup>a</sup>	1,18 ± 0,05 <sup>a</sup>	1,06 ± 0,03 <sup>a</sup>	1,05 ± 0,06 <sup>a</sup>
<i>b</i> *	0,34 ± 0,09 <sup>a</sup>	0,37 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,51 ± 0,04 <sup>a</sup>	0,31 ± 0,13 <sup>a</sup>
$\Delta E$	-	0,77	0,25	0,19
<i>Microbiológicas</i>				
Aeróbios mesófilos (CFU/mL)	Ausência	3,7 x 10 <sup>5</sup>	1,6 x 10 <sup>6</sup>	1,5 x 10 <sup>6</sup>
Coliformes fecais e <i>E. coli</i> (NMP/mL)	< 3*	< 3*	< 3*	< 3*
Bolores e leveduras (UFC/mL)	< 10*	2,2 x 10 <sup>2</sup>	9,0 x 10 <sup>3</sup>	1,0 x 10 <sup>4</sup>

\* Limite de detecção de método. CPVPMT0: após o processamento; CPVPMT1: após 4 semanas de armazenamento; CPVPMT2: após 8 semanas de armazenamento e CPVPMT3: após 12 semanas de armazenamento. Com letras iguais, na mesma linha, não diferem no nível de 5% de significância para o teste de Tukey.

Em todos os períodos de armazenamento, os sólidos solúveis permaneceram em ~ 63 °Brix. Assim, o pH permaneceu ácido (3,85-3,96) e a acidez titulável variou de 1,61 a 1,81 (% em ácido málico) nas primeiras quatro semanas e permaneceu estável até o final do período.

Observou-se uma maior degradação dos compostos fenólicos do CPVPM após quatro semanas (38,5%), com uma perda de quase 52% no final do período. O conteúdo fenólico total diminuiu mais rapidamente durante o primeiro período de todo o tempo de armazenamento. Isso pode ser atribuído ao dano da estrutura celular da pitáia durante o processo de polpação. Conseqüentemente, a polifenol oxidase (PPO, EC 1.14.18.1), presente em altas concentrações em pitáia (SANTOS et al., 2020), poderia interagir com os compostos fenólicos e catalisar sua oxidação em quinonas na presença de oxigênio molecular, indicando a alta susceptibilidade desses compostos à degradação, estando de acordo com estudos anteriores (DENG et al., 2018). Felizmente, apesar de o conteúdo fenólico ter diminuído durante o armazenamento, a cor permaneceu estável em todos os períodos avaliados, medida pelas coordenadas  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ , resultado altamente positivo. Além disso, a diferença de cor ( $\Delta E$ ) foi menor que 1,0 em todos os períodos de armazenamento, consideravelmente imperceptível aos olhos humanos (MOKRZYCKI & TATOL, 2011).

A coloração do corante de pitáia vermelho-púrpura em T0 (CPVPMT0) pode ser observada na Figura 6, estando armazenado em embalagem de vidro (100 mL).

Figura 6. Coloração do corante de pitáia vermelho-púrpura logo após o processamento (T0)



Fonte: Autor

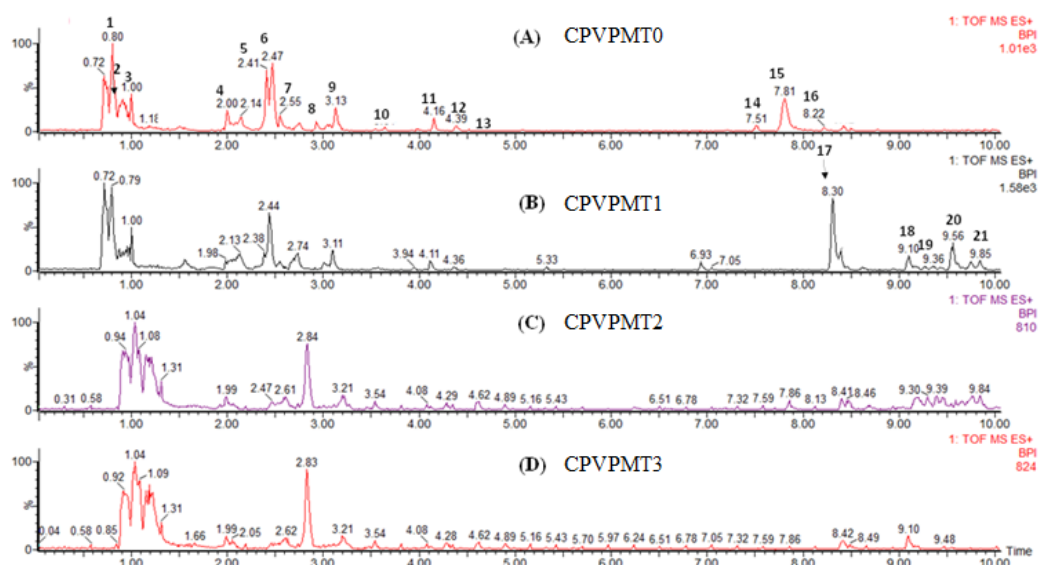
Embora a diferença de cor seja imperceptível aos olhos humanos, pode ter ocorrido alguma degradação dos principais compostos do CPVPM. Essas degradações podem ocorrer por diferentes razões, devido ao fato das betalainas exibirem uma estabilidade ideal na faixa de pH levemente ácido entre 3 e 7 e o pH do CPVPM é de 3,85-3,96. Os mecanismos de degradação em condições ácidas ainda não são claros, embora formas isomerizadas de betanina (isobetanina), formas desglicosiladas (betanidina) e 14,15-desidrobetanina (neobetanina) tenham sido observadas após o tratamento ácido (SCHWEIGGERT, 2018). Assim, devido à sua

natureza ácida, a estabilidade de cada composto no CPVPM foi avaliada na condição de armazenamento sob refrigeração. Essas informações poderão usadas para determinar as propriedades cromáticas e a resistência tintorial do CPVPM, e ajudar na modulação da cor pela degradação direcionada da betacianina.

O CPVPM apresentou maior contagem de leveduras e bolores no último período (décima segunda semana). Por esse motivo, todas as análises envolvidas na estabilidade do corante foram realizadas antes desse período. Isso pode ter ocorrido porque o CPVPM foi concentrado em um evaporador rotativo a 40 °C, e essa temperatura não foi adequada para a inativação de microrganismos sensíveis ao calor, como bolores e leveduras. A atividade da água foi reduzida no processo, dessa forma, auxiliando na conservação, visto que, a maioria dos bolores cresce a 0,80. Na semana 12, o corante armazenado a 7 °C apresentou, leveduras e contagem de bolores de  $1,0 \times 10^4$  ufc/mL (Tabela 5), o que não é desejável, porém com relação a contagem de microrganismos necessários para deterioração de alimentos, há consenso na literatura de que contagens microbianas a partir de aproximadamente  $10^7$  ufc/g ou mL de produto, os microrganismos são capazes de produzir metabólitos e alterarem a matriz alimentar de modo a tornar perceptível a deterioração (RIBEIRO et al., 2018; FORSYTHE, 2013). Sendo assim, podemos considerar que a contagem na semana 12 ainda estava dentro do aceitável.

Os cromatogramas de intensidade de pico de base representativa (BPI) de CPVPM em diferentes tempos de armazenamento são mostrados na Figura 7. De forma resumida, todos os doze compostos (Tabela 4) foram identificados como possíveis carboidratos, betalainas e flavonoides (2, 7 e 3, respectivamente).

Figura 7. Cromatogramas BPI representativos mostrando os perfis de corante pitaia vermelho-púrpura microfiltrado em diferentes períodos de armazenamento



CPVPMT0: após o processamento; CPVPMT1: após 4 semanas de armazenamento; CPVPMT2: após 8 semanas de armazenamento e CPVPMT3: após 12 semanas de armazenamento.

#### 4.1.1. Carboidratos

A análise dos sacarídeos 1 e 2 (tR: 0,82 e 0,88, respectivamente) foi desafiadora devido à possível associação com moléculas de água e íons sódio e potássio. O espectro MS<sup>1</sup> mostrou um pico base em m/z 399,0892 [C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub> + K + H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup> e 667,2301 [M + H]<sup>+</sup>, respectivamente. Nos espectros MS<sup>2</sup> para os íons 1 e 2, o pico base foi encontrado em m/z 219 [glicose + K]<sup>+</sup> e 203 [glicose + Na]<sup>+</sup> (LIRA et al., 2020), respectivamente. Íons catiônicos semelhantes foram observados para o trissacarídeo hexose e o tetrassacarídeo hexose usando espectrometria de massa ortogonal em tempo de retenção ortogonal por quadrupolo por ionização por dessorção a laser assistida por matriz (LEE e NI, 2019). O pico base em m/z 667,2301 representa o íon molecular [M + K]<sup>+</sup> que corresponde a tetrassacarídeos, como maltotetraose ou estaquiase (C<sub>24</sub>H<sub>42</sub>O<sub>21</sub>), comumente encontrados em *Hylocereus polyrhizus* (LIRA et al., 2020). Os espectros MS<sup>2</sup> do metabólito 2 mostraram um pico de fragmento em m/z 705,1832 correspondente ao aduto de potássio, [C<sub>24</sub>H<sub>42</sub>O<sub>21</sub> + K]<sup>+</sup>. Além disso, os picos em m/z 543,1473, 399,0977, 219,0278 e 163,0628 foram atribuídos aos principais produtos de clivagem glicosídica C3, C2 e C1 formados através da perda neutra de uma, duas e três porções hexose, respectivamente. A perda de massa foi de 486 Da (m/z 705,1832 [M + K]<sup>+</sup> - 219,0278 [glicose + K]<sup>+</sup>) e 326 Da (m/z 543,1473 [M + K]<sup>+</sup> - 219,0278 [glicose + K]<sup>+</sup>), correspondendo à perda

de um dissacarídeo e trissacarídeo, respectivamente.

#### 4.1.2. Betalainas

Antes de iniciar o experimento (CPVPMT0), sete derivados de betalaína (3-9) foram encontrados no CPVPM, que foram previamente relatados para as espécies de *Hylocereus* (Tabela 4). É importante notar que a degradação dos compostos responsáveis pela cor característica da pitiaia foi priorizada (LIAO et al., 2020).

As três formas isoméricas de filocactina (3, 5 e 6) foram observadas em diferentes tempos de retenção (tR: 0,99, 2,40 e 2,47 a m/z: 637,1524, 637,1516 e 637,1500, respectivamente). Os íons esperados do fragmento molecular protonado  $[M + H]^+$  dos pigmentos betanina (m/z 551) e betanidina (m/z 389) também foram observados para todos os isômeros de filocactina identificados experimentalmente. A técnica de separação por cromatografia líquida não nos permitiu distinguir os isômeros dos compostos identificados inequivocamente (CAI et al., 2006).

Os espectros MS<sup>1</sup> e MS<sup>2</sup> do metabólito 4 mostraram a presença de  $[M + H]^+$  em m/z 551,1513 para o isômero de betanina (tR = 2,00). O íon fragmento comum em m/z 389,0239 (551 - 162  $[C_6H_{12}O_6]$ ) resultou da perda de açúcar (GARCÍA-CRUZ et al., 2017).

O pico 7 (tR = 2,55 min) foi tentativamente identificado como apiosil-malonil-betanina a m/z 769,1943. Os íons fragmentos observados em m/z 593,1502 (637 - CO<sub>2</sub>), m/z 505,1563 (637-3CO<sub>2</sub>) e m/z 389,1519 (betanidina) concordam com os relatados na literatura (LIAO et al., 2020).

A descarboxilação é comum em processos térmicos e oxidativos de betalainas (WYBRANIEC et al., 2013). No entanto, a clivagem do grupo carboxil na porção malonil da betacianina 7 não foi relatada até o momento. A clivagem dos grupos carboxila ocorre nas posições C-2, C-15 ou C-17 da porção betanidina / isobetanidina (C<sub>24</sub>H<sub>27</sub>N<sub>2</sub>O<sub>13</sub>) (CAI et al., 2006).

Os dados MS<sup>1</sup> dos picos 8 e 9 indicaram que esse composto existe na forma catiônica (C<sub>26</sub>H<sub>29</sub>N<sub>2</sub>O<sub>14</sub><sup>+</sup>) a m/z 593,1618 (9, tR = 3,06 e 3,11 min). O espectro MS<sup>2</sup> mostrou fragmentos em m/z 549,1821 (44  $\mu$ m, indicando perda de CO<sub>2</sub>, correspondendo a uma porção carboxila) e 345.1600 (86  $\mu$ m, correspondendo à perda de um resíduo de malonilhexósideo), o que permitiu a identificação de ambos os picos como 6'-malonil-2'-descarboxy-betanina (IMTIYAJ KHAN; GIRIDHAR, 2015; GARCÍA-CRUZ et al., 2017).



### 4.1.3. Flavonoides

Os compostos 10, 11 e 13 foram tentativamente identificados como quercetina-3-O-hexósídeo, quercetina e luteína, respectivamente. O espectro de massa de 10 exibiu um pico de base protonado  $[M + H]^+$  a  $m/z$  465,0962 ( $t_R = 3,59$  min). O fragmento típico em  $m/z$  303,1009 obtido pela perda da porção de açúcar (WANG & SPORNS, 2000) sugeriu a presença de uma flavona glicosilada. Portanto, a molécula 10 foi identificada como quercetina-3-O-hexosídeo (AMAYA-CRUZ et al., 2019; LIRA et al., 2020).

Quercetina (11,  $t_R = 4,16$ ) e luteolina (13,  $t_R = 4,50$ ) foram provisoriamente identificadas como íons protonados  $[M + H]^+$  a partir de picos em  $m/z$  303,0505 e 287,0566, respectivamente. A luteolina (13) e as quercetinas (10 e 11) já foram observadas nas espécies de *Hylocereus* (COHEN, FAIT & TEL-ZUR, 2013; LI et al., 2019).

Metabólitos com tempos de retenção acima de 8,30 min (17–21 - CPVPMT1) pareciam se formar durante o período de armazenamento, pois sua ausência total foi observada no CPVPMT0 (Tabela 4). Infelizmente, alguns metabólitos que apareceram durante o armazenamento não puderam ser identificados. Essas possíveis reações colaterais sugerem que o processo químico em espécies de *Hylocereus* levou a alterações do metabólito em vários níveis que não são completamente compreendidos, mas podem estar correlacionados com a temperatura, conforme relatado anteriormente (LIAO et al., 2020). No entanto, o processamento e o armazenamento podem incluir uma série de reações químicas como isomerização, desglicosilação, hidrólise, descarboxilação e desidrogenação que podem resultar em alterações de cor e, conseqüentemente, alterações na absorção (ESQUIVEL, 2016). Como não foram observadas grandes alterações de cor no final do processamento, podem ocorrer reações químicas de maneira não significativa.

O processo de isomerização predominou no início (CPVPMT0), principalmente devido à presença de filocactinas (3, 5 e 6) e isômeros 6'-malonil-2'-descarboxy-betanina (8 e 9). Ao comparar o ponto de partida ao final do experimento (CPVPMT3), fica claro que os pigmentos de betalaína se degradaram. É importante notar que não foram detectados metabólitos, como as betaxantinas responsáveis pela coloração amarela, o que poderia explicar a ausência de cor amarela mesmo no final do processo (CPVPMT3).

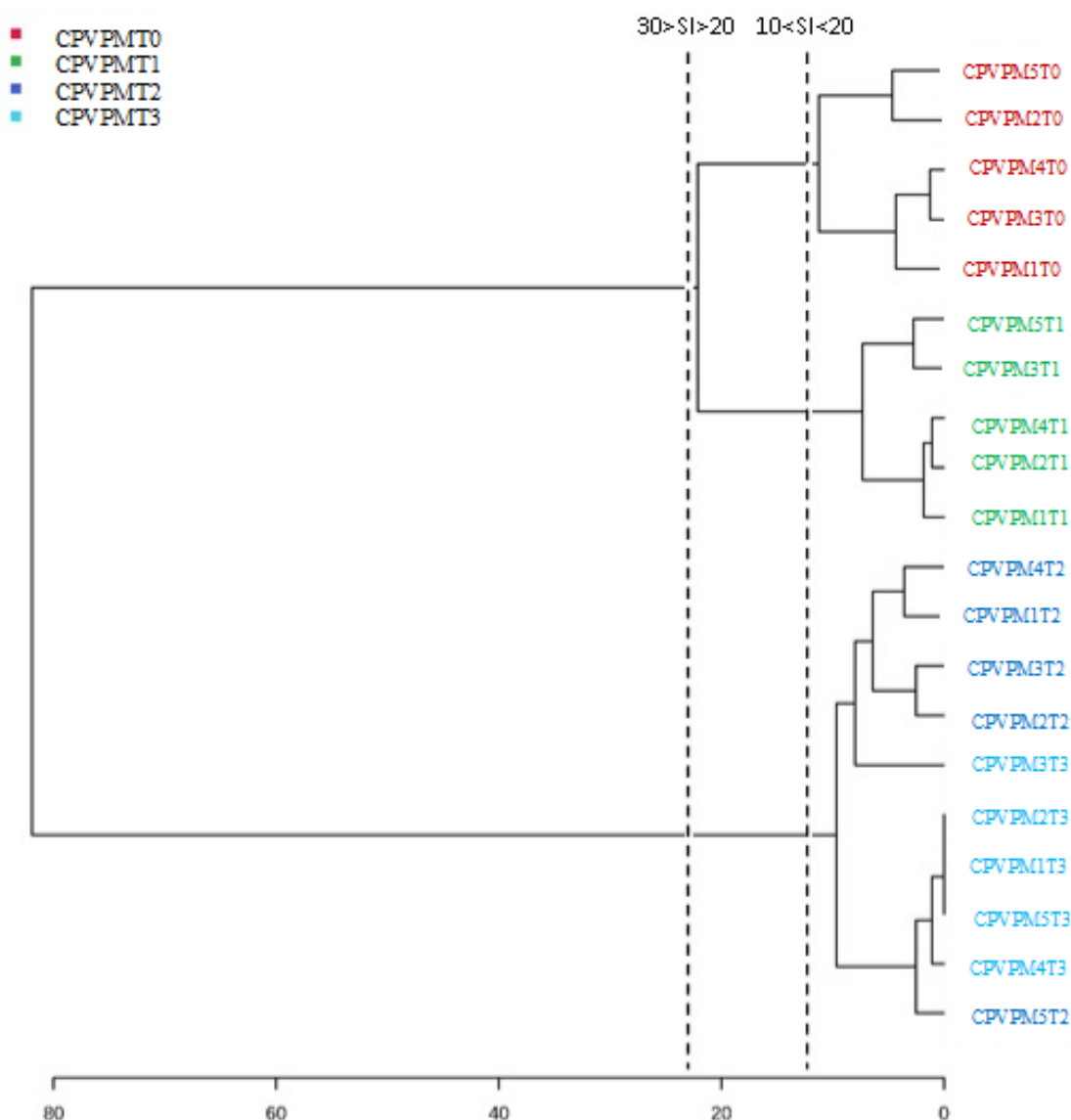
### 4.1.4. Análise de dados multivariada

Primeiramente, os dados foram submetidos à análise pelo HCA, uma ferramenta de análise multivariada responsável por agrupar amostras com base em similaridades entre as

variáveis (picos de  $m/z$  para compostos) que os compõem. A partir desta análise, foi obtido um dendrograma (Figura 8), cujos ramos variaram em comprimento de 0 a 80. A partir de um índice de similaridade (SI)  $10 < SI < 20$  representado pela linha vertical traçada no dendrograma, foi possível identificar quatro grupos de amostras: CPVPMT0 (vermelho), CPVPMT1 (verde), CPVPMT2 (azul escuro) e CPVPMT3 (azul claro). Esses grupos estão relacionados à classificação das amostras de CPVPM analisadas via UPLC-ESI-QTOF-MS<sup>E</sup> em diferentes tempos de armazenamento, T0 (após processamento), T1 (quatro semanas), T2 (oito semanas) e T3 (doze semanas).

Nos agrupamentos, foi observada uma sobreposição das amostras dos grupos T2 e T3, onde a replicação CPVPM3T3 (referente ao T3) foi classificada no grupo referente às amostras de oito semanas (T2), bem como a classificação da replicação CPVPM5T2 (T2) no grupo de amostra de 90 dias (T3). A partir de  $30 > SI > 20$  (Figura 8), foi possível obter um agrupamento das amostras em dois grandes grupos distintos. Um grande grupo foi composto por amostras com tempos de armazenamento T0 e T1 e outro com amostras dos tempos T2 e T3. A tendência observada torna evidente que o perfil químico do CPVPM mudou consideravelmente após oito semanas; no entanto, o material ainda mantinha sua cor inicial, o que implica que as substâncias responsáveis pela cor apresentavam um alto nível de estabilidade como visto na discussão sobre características físico-químicas.

Figura 8. Dendrograma representando o agrupamento hierárquico do perfil químico do corante pitaia vermelho-púrpura microfiltrado (CPVPM).



T0 = 0, T1 = 4, T2 = 8 e T3 = 12 semanas; CPVPM<sub>n</sub>, em que n = 0, 1.

Assim, confirmou-se que o HCA foi capaz de determinar o perfil de distribuição das amostras com alta homogeneidade nos intergrupos, implicando que a composição química dos quatro grupos de amostras é significativamente diferente.

Dados os agrupamentos característicos para os diferentes perfis metabólicos do CPVPM em dois grandes grupos, foi realizado um estudo da distribuição da abundância relativa dos principais metabólitos responsáveis pela coloração. Foram considerados diferentes tempos de armazenamento para visualizar a tendência de estabilidade no período T2 (CPVPM<sub>2</sub>) a T3 (CPVPM<sub>3</sub>) em comparação com os outros tempos (T0 e T1). Para este procedimento, apenas

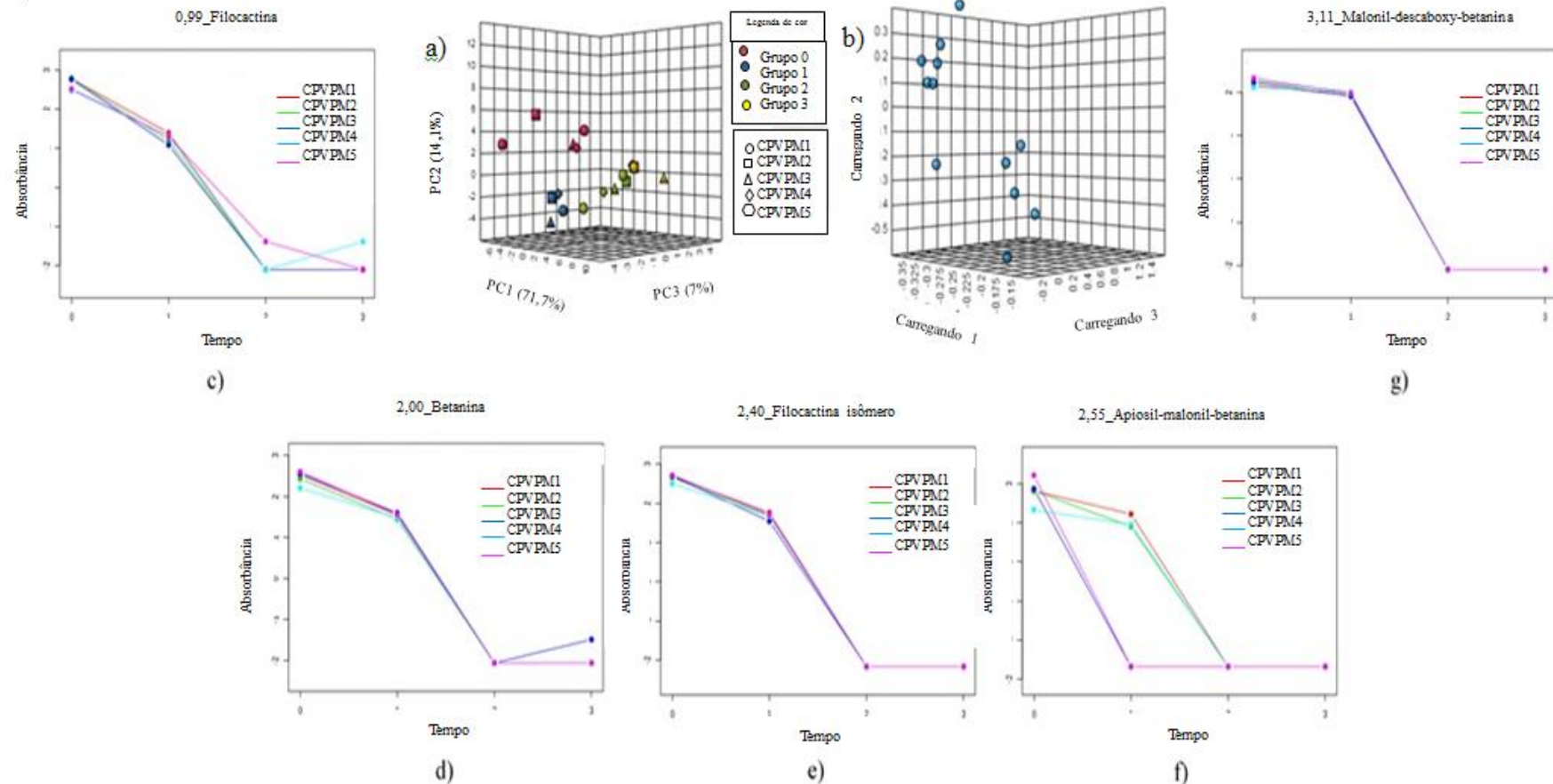
os dados dos compostos obtidos após o processo de deconvolução espectral pelo software MakerLynx XS foram utilizados, com ênfase nos compostos responsáveis pela coloração do corante.

Para tanto, foi conduzida a análise de séries temporais, onde foi possível aplicar a ferramenta iPCA na tentativa de observar a tendência dos padrões naturais de agrupamento entre as amostras com base em seus tempos de armazenamento e a variação na abundância relativa dos compostos de interesse ao longo do tempo. No iPCA, os dados foram redimensionados em um novo sistema de eixos (componentes principais, PCs), possibilitando a visualização dos gráficos de pontuações e cargas em três dimensões (3D), descrevendo as principais características que envolviam as variáveis.

A partir da análise dos dados no gráfico de escores interativos (Figura 9a), onde foi observada a relação de similaridade entre as amostras, foi possível verificar a formação de quatro grupos. Essa tendência foi explicada por um percentual da variação de 71,7% equivalente a PC1, 14,1% a PC2 e 7,0% a PC3, indicando que 92,8% da informação original foi descrita pelo método empregado. O grupo de amostras correspondentes à análise imediata após o processamento (CPVPMT0, em vermelho) foi observado nas regiões negativas do PC1 (entre -4 e -6) e nas regiões positivas do PC2 (entre 2 e 7). O grupo de amostras referentes a quatro semanas de armazenamento (CPVPMT1, em azul) foi encontrado nas regiões negativas do PC1 (entre -4 e -6), o mesmo que CPVPMT0, exceto que estava localizado na região negativa do PC2 (entre -2 e -4).

Nos períodos de armazenamento de oito e doze semanas, os dois grupos foram observados nas regiões positivas do PC1 (entre 4 e 6), sendo agrupados de maneira quase sobreposta, implicando uma similaridade entre os perfis de substâncias que compunham esses dois últimos grupos de amostra. Esse comportamento confirma a estabilidade dos compostos após doze semanas de armazenamento e corrobora com os resultados obtidos pelo HCA, indicando que há uma similaridade no perfil químico das amostras que constituem os dois grupos de análise (CPVPMT2 e CPVPMT3), ao contrário do observado para as outras amostras.

Figura 9. Análise por iPCA de amostras de CPVPM em diferentes tempos de armazenamento e o comportamento da variação na abundância relativa (Fig. c, d, e, f e g) dos principais metabólitos.



Os gráficos de pontuações (Fig. a) e cargas (Fig. b) mostram a tendência de agrupamento a partir da contribuição de cada variável em diferentes tempos de armazenamento. As disposições dos quatro grupos (grupo 0, grupo 1, grupo 2 e grupo 3) são equivalentes ao conjunto de amostras formadas pelas réplicas (CPVPM1, CPVPM2, CPVPM3, CPVPM4 e CPVPM5) para cada período de armazenamento (0, 4, 8 e 12 semanas, respectivamente).

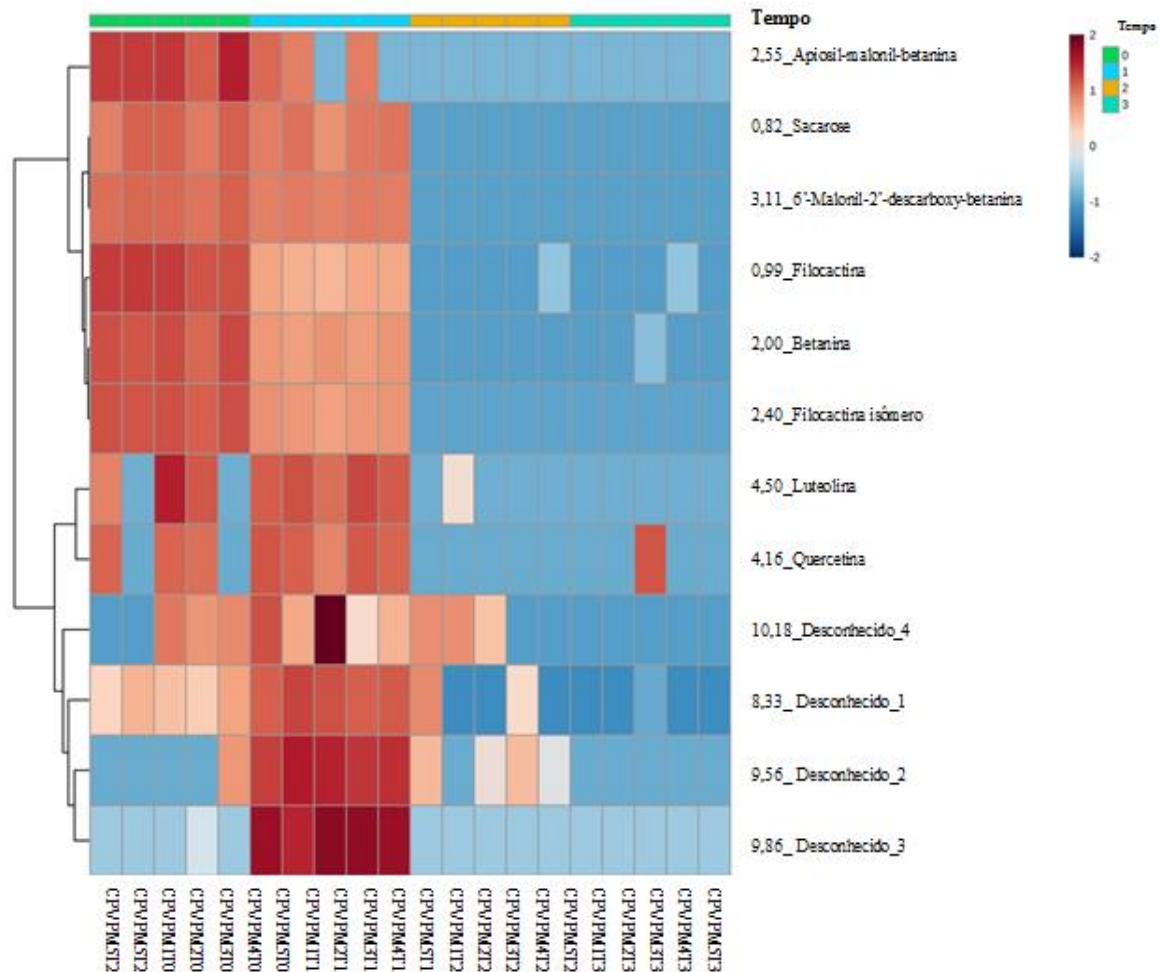
A partir dos valores característicos da contribuição de cada variável no novo sistema de eixos, representado no gráfico interativo (Figura 9b), o iPCA revelou as variáveis responsáveis pelo agrupamento das amostras ao considerar o tempo de armazenamento. Assim, observou-se que os compostos tentativamente identificados como isômeros de filocactina (pico 3,  $tR = 0,99$ , pico 5,  $tR = 2,40$ ), betanina (pico 4,  $tR = 2,00$ ), apiosil-malonil-betanina (pico 7,  $tR = 2,55$ ) e 6'-malonil-2'-descarboxy-betanina (pico 9,  $tR = 3,11$ ), encontrado nas regiões positivas da Carga 2 (Figura 9b), tiveram uma maior contribuição na formação do grupo 0 (CPVPMT0) formado por todas as amostras em T0.

Essa tendência prova que esses compostos apresentaram maior abundância relativa quando comparados às suas abundâncias nas amostras mantidas por outros tempos de armazenamento. Essa diferença nas abundâncias foi responsável pelos agrupamentos observados no gráfico de escores (Figura 9a). Esse comportamento foi confirmado quando os gráficos de abundância relativa foram analisados a partir do gráfico (Figura 9b) dos compostos 3–5, 7 e 9 em função do tempo de armazenamento do corante (Figura 9c – g).

A variação na abundância diminuiu com o tempo, com uma súbita deterioração após oito semanas de armazenamento, e permaneceu constante até o final de doze semanas. Um resumo da variação na abundância dos compostos pode ser visto no mapa de calor obtido para as amostras (Figura 10).

Portanto, concluiu-se que a abundância relativa de compostos responsáveis pelo efeito colorante do CPVPM nas amostras analisadas com zero e quatro semanas de armazenamento foi maior do que nas amostras armazenadas por oito e doze semanas. Apesar desse perfil, foi possível perceber que a cor do CPVPM havia se mantido ao longo do tempo, o que foi comprovado pela constância dos resultados analíticos da relativa abundância de compostos.

Figura 10. Heatmap com agrupamento hierárquico de parte dos principais metabólitos obtidos para o corante pitaia analisado em diferentes tempos de armazenamento.



Os tempos de armazenamento 0, 4, 8 e 12 semanas, representadas por 0, 1, 2 e 3, respectivamente. As amostras estão em colunas e as variáveis estão em linhas. As cores variam de azul profundo a vermelho escuro para indicar valores de abundância relativa que variam de muito baixo (frio) a extremamente alto (quente).

## 4.2. Caracterização do produto (Iogurte)

### 4.2.1. Grupo focal

Obteve-se através da metodologia de grupo focal sugestões sobre alimentos que seriam aceitáveis com o CPVPM como corante alimentar. Após a análise visual do CPVPM por cada participante, houve discussão e desenvolveu-se uma lista de possibilidades de aplicações. As principais sugestões obtidas do grupo focal incluíram iogurte e bebidas. De acordo com Chhikara et al. (2019), betalainas de beterraba podem ser usados para colorir uma variedade de alimentos, como laticínios, iogurte, queijo processado e doces. De fato, a beterraba é usada

como corante natural em várias marcas de iogurte no Brasil, e esse produto pode ser usado como um comparativo comercial para análise sensorial. Com base nessas observações, o produto selecionado foi iogurte.

#### 4.2.2. Caracterização físico-química do produto (iogurte)

Cada formulação preparada usando iogurte natural comercial em diferentes concentrações de CPVPM foi caracterizada e os resultados estão apresentados na Tabela 6. O pH variou entre 4,07 e 4,17 e acidez titulável variou entre 0,10 e 0,11 (% em ácido málico). O conteúdo de sólidos solúveis não foi estatisticamente significativo entre as formulações ( $p > 0,05$ ). Esses resultados mostraram que o CPVPM não teve influência sobre essas características do iogurte e, portanto, apresenta grande potencial para uso como corante alimentar na indústria.

Tabela 6. Caracterização do iogurte com diferentes concentrações do corante pitaiá vermelho-púrpura microfiltrado (CPVPM).

Características	Formulações						
	Controle	A	B	C	D	E	F
pH	4,07 ± 0,01 <sup>cd</sup>	4,16 ± 0,02 <sup>b</sup>	4,07 ± 0,01 <sup>cd</sup>	4,09 ± 0,01 <sup>c</sup>	4,11 ± 0,02 <sup>c</sup>	4,28 ± 0,01 <sup>a</sup>	4,03 ± 0,01 <sup>d</sup>
Acidez (% ácido málico)	0,11 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,11 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,11 ± 0,01 <sup>bc</sup>	0,10 ± 0,01 <sup>c</sup>	0,10 ± 0,01 <sup>c</sup>	0,89 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,15 ± 0,01 <sup>d</sup>
Sólidos solúveis (°Brix)	10,57 ± 0,04 <sup>e</sup>	11,43 ± 0,04 <sup>c</sup>	11,50 ± 0,08 <sup>c</sup>	11,35 ± 0,09 <sup>d</sup>	11,87 ± 0,05 <sup>b</sup>	14,53 ± 0,01 <sup>a</sup>	14,53 ± 0,01 <sup>a</sup>
L*	87,47 ± 0,29 <sup>a</sup>	82,50 ± 0,36 <sup>b</sup>	79,11 ± 0,33 <sup>c</sup>	75,20 ± 0,30 <sup>d</sup>	74,05 ± 0,43 <sup>ef</sup>	74,65 ± 0,01 <sup>e</sup>	73,19 ± 0,02 <sup>f</sup>
a*	-1,36 ± 0,02 <sup>g</sup>	6,28 ± 0,06 <sup>f</sup>	10,65 ± 0,08 <sup>e</sup>	14,78 ± 0,08 <sup>d</sup>	15,94 ± 0,12 <sup>a</sup>	13,86 ± 0,02 <sup>c</sup>	14,95 ± 0,02 <sup>b</sup>
b*	10,0 ± 0,03 <sup>a</sup>	5,28 ± 0,07 <sup>b</sup>	3,02 ± 0,02 <sup>c</sup>	1,36 ± 0,01 <sup>f</sup>	1,05 ± 0,01 <sup>g</sup>	1,80 ± 0,02 <sup>e</sup>	2,63 ± 0,01 <sup>d</sup>

Controle: Iogurte natural sem CPVPM; A: Iogurte natural com adição de 0,5% de CPVPM; B: Iogurte natural com adição de 1% de CPVPM; C: Iogurte natural com adição de 1,5% de CPVPM; D: Iogurte natural com adição de 2% de CPVPM. Com letras iguais, na mesma linha, não diferem no nível de 5% de significância para o teste de



Tukey.

Como esperado, o CPVPM influenciou todos os parâmetros de cores testados, promovendo a alteração da luminosidade da cor (diminuindo  $L^*$ , onde  $L^* = 0$  produz preto e  $L^* = 100$  indica branco difuso), aumentou  $a^*$  (onde valores negativos indicam verde enquanto valores positivos indicam magenta) e  $b^*$  decresceu (onde valores negativos indicam azul e valores positivos indicam amarelo). A diferença de cores é definida como a comparação numérica da cor de uma amostra com o padrão e indica a diferença de coordenadas de cores absolutas ( $\Delta E$ ). Os valores de  $\Delta E$  entre todas as formulações foram superiores a 5, mostrando que as diferenças de cor eram visíveis ao olho humano, principalmente nas Formulações A vs. B e A vs. C. A coloração dos iogurtes A - F pode ser observada através da Figura 11.

Figura 11. Coloração dos iogurtes contendo o CPVPM de A – D e os comerciais E e F, utilizados na análise sensorial



Vista frontal e superior das taças; A – iogurte com adição de 0,5% de CPVPM, B – iogurte com adição de 1% de CPVPM, C – iogurte com adição de 1,5% de CPVPM, D – iogurte com adição de 2% de CPVPM, E - iogurte com corante de beterraba e F - iogurte com corante carmim.

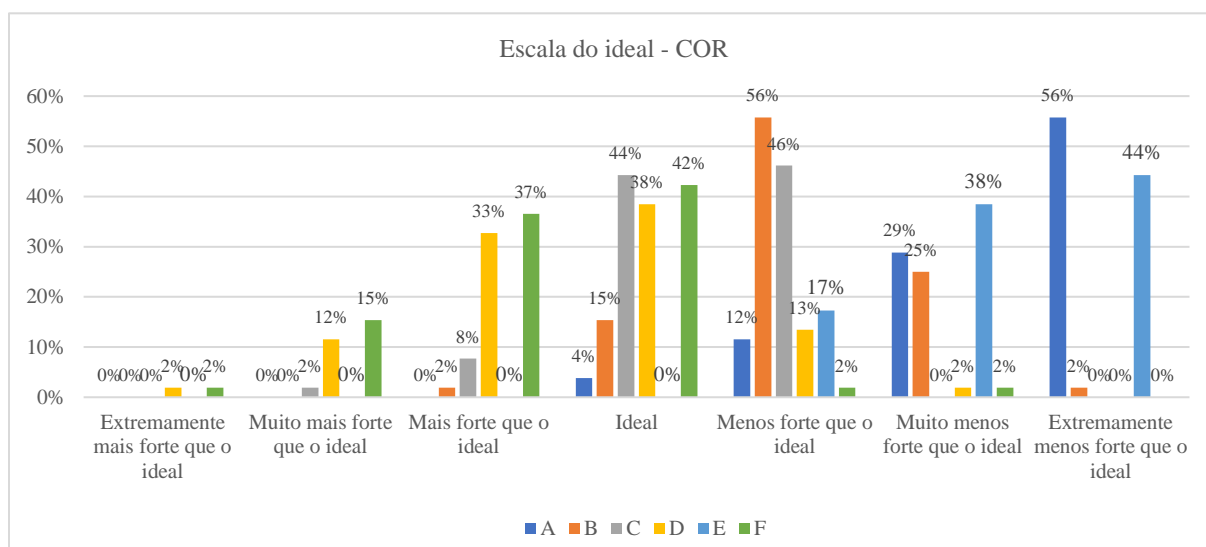
### 4.3. Análise sensorial do produto (iogurte)

A avaliação das formulações experimentais de iogurte adicionado de CPVPM (A, B, C e D) e dos dois produtos comerciais (E e F) pelos consumidores, mostrou que nenhuma das formulações alcançou o nível ideal de cor, “ideal”  $\geq 70\%$  (Figura 12).

No entanto, a menor concentração de CPVPM (Formulação A) foi estatisticamente similar ( $p > 0,05$ ) à Formulação E (entre "muito menos intensa que o ideal" e "extremamente menos intensa que o ideal"), apresentando valores médios 1,63 e 1,73, respectivamente e a

maior concentração de CPVPM (Formulação D) foi estatisticamente semelhante ( $p>0,05$ ) à Formulação F, com valores médios de 4,44 e 4,67, respectivamente (COSTA, 2018). Esses resultados mostraram que o produto colorido com corante pitaia é capaz de atingir uma intensidade de cor similar aos corantes naturais disponíveis no mercado brasileiro, quando utilizados em baixas concentrações (0,5%) e a corantes artificiais comerciais se utilizados em concentrações mais elevadas (2%).

Figura 12. Percentuais de idealidade para as formulações A, B, C e D.



A – iogurte com adição de 0,5% de CPVPM, B – iogurte com adição de 1% de CPVPM, C – iogurte com adição de 1,5% de CPVPM, D – iogurte com adição de 2% de CPVPM, E - iogurte com corante de beterraba e F - iogurte com corante carmim.

Também houve diferenças significativas ( $p>0,05$ ) na aceitação da cor entre os iogurtes CPVPM, variando entre 4,5 (desgostei pouco) e 7,9 (gostei) na escala hedônica estruturada de 9 pontos. No entanto, não foram observadas diferenças ( $p>0,05$ ) entre as formulações com 1,5 e 2,0% de corante. De fato, no teste de preferência, ficou evidenciado as formulações 1,5 e 2,0% são igualmente preferidas ( $p>0,05$ ) entre os julgadores, e as mais preferidas ( $p>0,05$ ) entre as demais formulações (0,5 e 1,0%). Quando os participantes do painel foram solicitados a expressar sua intenção de compra, as formulações C e D exibiram 90% de respostas positivas de compra (“provavelmente comprariam” + “certamente comprariam”), enquanto as formulações A e B não alcançaram 50%.

Para aceitação do aroma e intensidade de sabor residual (não característico de iogurte), os resultados não mostraram diferenças ( $p>0,05$ ) entre as formulações (Tabela 7). Além disso, os resultados do teste triangular para aroma não mostraram diferença significativa ( $p>0,05$ ) entre as formulações C e D quando comparados a um iogurte sem adição de CPVPM

(controle), indicando que a adição de CPVPM não alterou o aroma do iogurte.

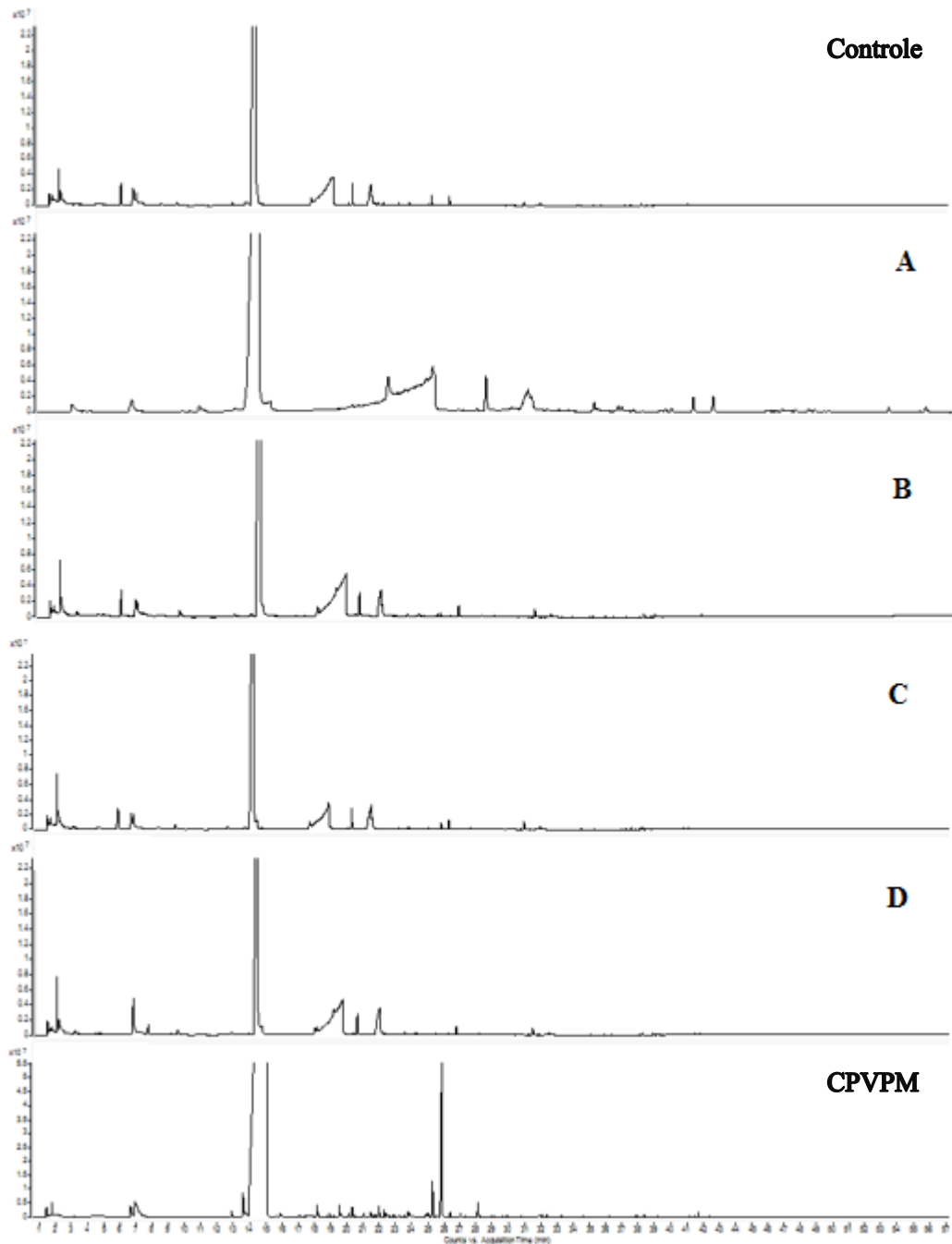
Tabela 7. Resultados da avaliação sensorial do aroma, sabor residual e aceitação de cor de iogurtes A – F e teste de escala do ideal em comparação com amostras comerciais.

	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>	<b>D</b>	<b>E</b>	<b>F</b>
Aroma	7,63 <sup>a</sup>	7,38 <sup>a</sup>	7,57 <sup>a</sup>	7,59 <sup>a</sup>	-	-
Sabor residual	0,49 <sup>a</sup>	0,30 <sup>a</sup>	0,30 <sup>a</sup>	0,39 <sup>a</sup>	-	-
Cor	4,55 <sup>c</sup>	6,51 <sup>b</sup>	7,75 <sup>a</sup>	7,92 <sup>a</sup>	-	-
Escala do ideal	1,63 <sup>d</sup>	2,90 <sup>c</sup>	3,65 <sup>b</sup>	4,44 <sup>a</sup>	1,73 <sup>d</sup>	4,67 <sup>a</sup>

A – iogurte com adição de 0,5% de CPVPM, B – iogurte com adição de 1% de CPVPM, C – iogurte com adição de 1,5% de CPVPM, D – iogurte com adição de 2% de CPVPM, E - iogurte com corante de beterraba e F - iogurte com corante carmim. Com letras iguais, na mesma linha, não diferem no nível de 5% de significância para o teste de Tukey.

Para reforçar esses resultados, foi determinado o perfil de compostos voláteis das formulações de iogurtes (Figura 13). Assim, todos os iogurtes têm perfil semelhante, confirmando os resultados obtidos na análise sensorial.

Figura 13. Compostos voláteis de iogurtes contendo diferentes concentrações de corante pitaia vermelho-púrpura microfiltrado (CPVPM e controle).



Controle – Iogurte sem adição de CPVPM, A – iogurte com adição de 0,5% de CPVPM, B – iogurte com adição de 1% de CPVPM, C – iogurte com adição de 1,5% de CPVPM, D – iogurte com adição de 2% de CPVPM.

## 5. CONCLUSÃO

O CPVPM é uma mistura de diversos compostos, incluindo carboidratos, flavonoides e betalaínas. Apresenta estabilidade microbiológica e físico-química por doze semanas, contudo por, análises quimiométricas é possível diferenciar eficientemente o perfil metabólico em cada período de armazenamento por refrigeração.

O CPVPM possui imenso potencial como corante alimentar, principalmente em iogurte, pois pode melhorar a qualidade da cor sem afetar o aroma e as características do produto. Baseado nos resultados sensoriais dos iogurtes adicionados de CPVPM, dependendo da concentração utilizada, pode indicar que apresentam coloração semelhante a iogurtes comercializados com corante carmin e de beterraba. Espera-se que os resultados deste estudo sejam úteis para o desenvolvimento e aplicação de CPVPM como corante natural de alimentos.

## REFERÊNCIAS

- ABREU, W. C.; LOPES, C. O.; PINTO, K. M.; OLIVEIRA, L. A.; CARVALHO, G. B. M.; BARCELO, M. F. P. Características físico-químicas e atividade antioxidante total de pitaias vermelha e branca. **Revista Instituto Adolf Lutz**, São Paulo, v. 71, n. 4, p.656-661, jul. 2012.
- ADITIVOS E INGREDIENTES. **Corantes naturais**. Revista Aditivos e Ingredientes, n. 75, p. 2-12, 2009. Disponível em: <https://aditivosingredientes.com.br/artigos/ingredientes-funcionais/corantes-naturais> Acesso em: 20 mar. 2020.
- ADNAN, Liana; OSMAN, Azizah; HAMID, Azizah Abdul. Antioxidant Activity of Different Extracts of Red Pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) Seed. **International Journal Of Food Properties**, [s.l.], v. 14, n. 6, p. 1171-1181, nov. 2011.
- AKBAR HUSSAIN E., SADIQ Z., ZIA-UL-HAQ M. Betalains as Colorants and Pigments. In: **Betalains: Biomolecular Aspects**. Springer, Cham, p. 125-137, 2018.
- ALIAA, A.R. Nur; MAZLINA, M.K. Siti; TAIP, F.S. Effects of commercial pectinases application on selected properties of red pitaya juice. **Journal Of Food Process Engineering**, [s.l.], v. 34, n. 5, p. 1523-1534, dez. 2009.
- ALVARADO, M. del R. M.; GARCÍA, J. C.; VALDEZ, C. A. F.; CRUZ, M. Á. G.; CANTO, A. R.; RINDERMANN, R. S. **Pitayas y pitahayas: Producción, poscosecha, industrialización y comercialización**. Chapingo: Ciestaam, 2003.
- ALVES, A. C. B.; MONTEIRO, L. B.; POMPEU, D. R. Otimização da extração sólido-líquido de compostos fenólicos totais e betalaínas da casca de frutos de pitaya (*Hylocereus polyrhizus*). **Revista brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 12, n. 1, p. 2556–2577, jan/jun 2018.
- AMAYA-CRUZ, Diana M.; PÉREZ-RAMÍREZ, Iza F.; DELGADO-GARCÍA, Jorge; MONDRAGÓN-JACOBO, Candelario; DECTOR-ESPINOZA, Andrés; REYNOSO-CAMACHO, Rosalía. An integral profile of bioactive compounds and functional properties of prickly pear (*Opuntia ficus indica* L.) peel with different tonalities. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 278, p. 568-578, abr. 2019.
- ANKOM. Technology method 2: Rapid determination of oil/fat utilizing high temperature solvent extraction. **Macedon, 2009**.
- AOAC - Association of Official Analytical Chemistry. **Official methods of analysis**. Gaithersburg, Maryland, 20 ed, 2016.
- AOCS - American Oil Chemists' Society. Official Method Am 5-04. Rapid determination of oil/fat utilizing high temperature solvent extraction. **Urbana: Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society**. 2005.
- AZEREDO, Henriette M.C. Betalains: properties, sources, applications, and stability - a review. **International Journal Of Food Science & Technology**, [s.l.], v. 44, n. 12, p. 2365-2376, 2009.

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.

BEUCHAT, Larry R.; KOMITOPOULOU, Evangelia; BECKERS, Harry; BETTS, Roy P.; BOURDICHON, François; FANNING, Séamus; JOOSTEN, Han M.; KUILE, Benno H. Ter. Low–Water Activity Foods: increased concern as vehicles of foodborne pathogens. **Journal Of Food Protection**, [s.l.], v. 76, n. 1, p. 150-172, jan. 2013.

BRASIL - D.O.U. - Diário Oficial da União. Decreto nº 55871. Modifica o Decreto nº 50.040, de 24 de janeiro de 1961, referente a normas reguladoras do emprego de aditivos para alimentos, alterado pelo Decreto nº691, de 13 de março de 1962. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 26 de março de 1965.

BRASIL - Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos. Resolução nº 44 de 1977. Considera corante a substância ou a mistura de substâncias que possuem a propriedade de conferir ou intensificar a coloração de alimento (e bebida). **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 01 de fevereiro de 1977.

BRASIL - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 46, de 23 de outubro de 2007. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, de Brasília, DF, 24 de outubro 2007.

BRASIL - Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria nº 540, de 24 de outubro de 1997. Aprova o Regulamento Técnico: Aditivos Alimentares - definições, classificação e emprego. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 24 de outubro de 1997.

CAI, Yi-Zhong; XING, Jie; SUN, Mei; CORKE, Harold. Rapid Identification of Betacyanins from *Amaranthus tricolor*, *Gomphrena globosa*, and *Hylocereus polyrhizus* by Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Quadrupole Ion Trap Time-of-Flight Mass Spectrometry (MALDI-QIT-TOF MS). **Journal Of Agricultural And Food Chemistry**, [s.l.], v. 54, n. 18, p. 6520-6526, set. 2006.

CASSANO, Alfredo; CONIDI, Carmela; DRIOLI, Enrico. Physico-chemical parameters of cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) juice clarified by microfiltration and ultrafiltration processes. **Desalination**, [s.l.], v. 250, n. 3, p. 1101-1104, jan. 2010.

CEAGESP. Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais de São Paulo. Dados 2017. 2017. Disponível em: <http://www.ceagesp.gov.br/guia-ceagesp/pitaia/>. Acesso em: 13 mar. 2020.

CELLI, Giovana Bonat; BROOKS, Marianne Su-Ling. Impact of extraction and processing conditions on betalains and comparison of properties with anthocyanins — A current review. **Food Research International**, [s.l.], v. 100, p. 501-509, out. 2017.

CHIK, C. T., BACHOK, S., & BABAET, N. Quality characteristics and acceptability of three types of pitaya fruits in a consumer acceptance test. **Journal of Tourism**, Malaysia, v. 3, n. 1, p.89–98, 2011.

CHHIKARA, N., KUSHWAHA, K., SHARMA, P., GAT, Y., & PANGHALET, A.. Bioactive compounds of beetroot and utilization in food processing industry: A critical review. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 272, 192–200, 2019.

CHONG, J., WISHART, D. S., XIA, J. **Using MetaboAnalyst 4.0 for Comprehensive and Integrative Metabolomics Data Analysis**. Current Protocols in Bioinformatics, [s.l.], v. 68, ed 86, p.128, 2019.

COELHO, L. C.; DIONÍSIO, A. P.; LIRA, S. M.; SANTOS, G. B. M.; ZOCOLO, G. J.; SILVA, G. S.; HOLANDA, M. O.; MARQUES, C. G.; COSTA, J. T. G.; MACIEL, G. L.; GUESDES, M. I. F. Características físico-químicas e efeito no estresse oxidativo da pitaiá vermelha em camundongos swiss diabéticos. **Reserch, Society and Development**, Fortaleza, v. 9, n. 7, 31 p., 2020.

COHEN, H., FAIT, A., & TEL-ZUR, N. Morphological, cytological and metabolic consequences of autopolyploidization in *Hylocereus (Cactaceae)* species. **BMC Plant Biology**, Negev, v.13, p.173, 2013.

CORDEIRO, Maria Helena Menezes; SILVA, Juceliandy Mendes da; MIZOBUTSI, Gisele Polete; MIZOBUTSI, Edson Hiydu; MOTA, Wagner Ferreira da. Caracterização física, química e nutricional da pitaiá-rosa de polpa vermelha. **Revista Brasileira de Fruticultura**, [s.l.], v. 37, n. 1, p. 20-26, mar. 2015

CORRÊA, F. **Clarificação do extrato obtido a partir do resíduo da fabricação do suco de beterraba (*Beta vulgaris L.*) por microfiltração**. 2016. 48 f. TCC (Graduação) - Curso de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2016.

COSTA, Vanderson da Silva. **Perfil sensorial de cachaça utilizando diferentes metodologias com consumidores**. 2018. 91 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2018.

CHOO, Jia; KOH, Rhun; LING, Anna. Medicinal Properties of Pitaya: a review. **Spatula Dd - Peer Reviewed Journal On Complementary Medicine And Drug Discovery**, [s.l.], v. 6, n. 2, p.69-76, 2016.

CRUZ, Ana Paula Gil. **Avaliação do efeito da extração e da microfiltração do açaí sobre sua composição e atividade antioxidante**. 2008. 104 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Bioquímica, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2008.

DAN, T., WANG, D., WU, S., JIN, R., REN, W., & SUN, T. Profiles of volatile flavor compounds in milk fermented with different proportional combinations of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus*. **Molecules**, [s.l.], v. 22, n. 10, p.1633–1647, 2017.

DENG, M., DENG, Y., DONG, L., MA, Y., LIU, L., HUANG, F., WEI, Z., ZHANG, Y., ZHANG, M., & ZHANG, R. Effect of storage conditions on phenolic profiles and antioxidant activity of litchi pericarp. **Molecules**, Wuhan, v. 23, n. 9, p.2276–2288, 2018.



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

DUTCOSKY, S.D. **Análise sensorial de alimentos**. 4 ed. Curitiba, 531p, 2013.

EE, S. C., JAMILAH, B., MUHAMMAD, K., HASHIM, D. M., ADZAHAN, N. Physico-chemical properties of spray-dried red pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) peel powder during storage. **International Food Research Journal**, Serdang, v. 21, n. 1, p. 155–160, fev. 2014.

ESATBEYOGLU, T., WAGNER, A. E., SCHINI-KERTH, V. B., RIMBACH, G. Betanin-A food colorant with biological activity. **Molecular Nutrition & Food Research**, Illkirch, v. 59, n. 1, p.36-47, jan. 2015.

ESQUIVEL, P. Betalains. **Handbook On Natural Pigments In Food And Beverages**, San Pedro, p.81-99, 2016.

ESQUIVEL, P.; ARAYA QUESADA, Y. Características del fruto de la pitahaya (*Hylocereus* sp.) y su potencial de uso en la industria alimentaria Pitahaya (*Hylocereus* sp.): fruit characteristics and its potential use in the food industry. **Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos**, San Jose, v. 3, n. 1, p. 113–129, 2012.

FENG, P., WEAGANT, S. D., GRANT, M. A., & BURKHARDT, W.. Enumeration of *Escherichia coli* and the Coliform Bacteria. In **Food and Drug Administration – FDA (Ed.), Bacteriological Analytical Manual (BAM)**. 4 ed, Chap. 4, 2002.

FOOD & INGREDIENTS. **Dossiê corantes**. n. 39, p. 24-46, 2016. Disponível em: [https://revista-fi.com.br/upload\\_arquivos/201612/2016120320277001480616337.pdf](https://revista-fi.com.br/upload_arquivos/201612/2016120320277001480616337.pdf). Acesso em: 20 mar. 2020.

FORSYTHE, S. J. Infecções e intoxicações de origem alimentar. In: \_\_\_\_\_. **Microbiologia da segurança dos alimentos**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.

GARCÍA-CRUZ, L., DUEÑAS, M., SANTOS-BUELGAS, C., VALLE-GUADARRAMA, S., & SALINAS-MORENO, Y. Betalains and phenolic compounds profiling and antioxidant capacity of pitaya (*Stenocereus* spp.) fruit from two species (*S. pruinosus* and *S. stellatus*). **Food Chemistry**, Jalisco, v. 234, p.111–118, nov. 2017.

GENGATHARAN, Ashwini; DYKES, Gary A.; CHOO, Wee Sim. Betalains: natural plant pigments with potential application in functional foods. **Lwt - Food Science And Technology**, [s.l.], v. 64, n. 2, p. 645-649, dez. 2015.

GONÇALVES, Letícia Christina P.; MARCATO, Amauri Cesar; RODRIGUES, Ana Clara B.; PAGANO, Ana Paula E.; FREITAS, Barbara C. de; MACHADO, Caroline de O.; NAKASHIMA, Karina K.; ESTEVES, Larissa C.; LOPES, Nathana B.; BASTOS, Erick L. Betalains: from the colors of beetroots to the fluorescence of flowers. **Revista Virtual de Química**, São Paulo, v. 7, n. 1, p. 292-309, 2015.

GUNASENA, H. P. M.; G. PUSHPAKUMARA, D. K. N.; KARIYAWASAM, M.; Dragon fruit (*Hylocereus undatus* (Haw.) Britton and Rose. In: G. PUSHPAKUMARA, D. K. N.;

GUNASENA, H. P. M.; SINGH, V. P.. **Underutilized fruit trees in Sri Lanka**. World Agroforestry Centre, South Asia Office, New Delhi, p. 110-141, 2007.

HARRIS, N.N., JAVELLANA, J., DAVIES, K.M. *et al.* Betalain production is possible in anthocyanin-producing plant species given the presence of DOPA-dioxygenase and L-DOPA. **BMC Plant Biol**, Palmerston North, v. 12, n. 34, 2012.

HAMERSKI, L.; REZENDE, M. J. C.; SILVA, B. V. Usando as cores da natureza para atender aos desejos do consumidor: Substâncias naturais como corantes na indústria alimentícia. **Revista Virtual de Química**, [s.l.], v. 5, n. 3, p. 394-420, 2013.

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**, Stuttgart, v. 39, p. 667-677, 2006.

HUANG, X., WANHD, H., YUAN, W., LU, J., YIN, J., LUO, S., & HUANG, H. A study of rapid senescence of detached litchi: roles of water loss and calcium. **Postharvest Biology and Technology**, [s.l.], v. 36, n. 2, p.177–189, 2005.

IMTIYAJ KHAN, M. Stabilization of betalains: A review. **Food Chemistry**, Guwahati, v. 197, p.1280-1285, abr. 2016.

IMTIYAJ KHAN, M., GIRIDHAR, P. Plant betalains: Chemistry and biochemistry. **Phytochemistry**, [s.l.], v. 117, p.267–295, 2015.

JAMILAH, B., SHU, C. E., KHARIDAH, M., DZULKIFLY, M. A., & NORANIZAN. A. Physico-chemical characteristics of red pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) peel. **International Food Research Journal**, Selangor, v. 18, n. 1, p. 279–286, jan. 2011.

JUNQUEIRA, Keize Pereira; FALEIRO, Fábio Gelape; JUNQUEIRA, Nilton Tadeu Vilela; BELLON, Graciele; LIMA, Cristiane Andréa de; SOUZA, Luciana Sobral de. Diversidade genética de pitayas nativas do cerrado com base em marcadores rapd1. **Revista Brasileira de Fiticultura**, Jaboticabal, v. 32, n. 3, p.819-824, out. 2010.

KHALILI, M. A., NORHAYATI, A. H., ROKIAH, M. Y., ASMAH, R., MOHD, NASIR, M. T., MUSKINAH M. S. Proximate composition and selected mineral determination in organically grown red pitaya (*Hylocereus* sp.). **Journal of Tropical Agriculture and Food Science**, Selangor, v. 34, n. 2, p.269–275, 2011.

KLUGE, R. A.; PRECZENHAK, A. P. Betalainas em beterraba minimamente processada: perdas e formas de preservação. **Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha**, Hermosillo, v. 17, n. 2, p. 175-19, 2016.

KUJALA, T.; LOPONEN, J.; PIHLAJA, K. Betalains and phenolics in red beetroot (*Beta vulgaris*) peel extracts: extraction and characterization. **Zeitschrift für Naturforschung C**. [s.l.], v. 56, p. 343–348, 2001.

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**, Bangkok, v. 18, n. 4, p. 1437–1448, 2011.

LEE, C., & NI, C. K. Soft matrix-assisted laser desorption/ionization for labile glycoconjugates. **Journal of the American Society for Mass Spectrometry**, [s.l.], v. 30, n. 8, p.1455–1463, 2019.

LI, G., MENG, X., ZHU, M., & LI, Z. Research progress of betalain in response to adverse stresses and evolutionary relationship compared with anthocyanin. **Molecules**, [s.l.], v. 24, n. 17, p.3078-3092, 2019.

LIAO, H., ZHU, W., ZHONG, K., & LIU, Y. Evaluation of colour stability of clear red pitaya juice treated by thermosonication. **LWT - Food Science and Technology**, [s.l.], v. 121, p.108997, 2020.

LIAOTRAKOON, W., DE CLERCQ, N., HOED, V. V., DEWETTINCK, K. Dragon Fruit (*Hylocereus* spp.) seed oils: their characterization and stability under storage conditions. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Ghent, v. 90, n.2, p.207-215, 2012.

LIMA, A. C. V., DIONÍSIO, A. P., ABREU, F. P. F., SILVA, S. G. da, LIMA JUNIOR, R. D., MAGALHÃES, H. C. R., GARRUTI, D. dos S., ARAUJO, I. M. da S., ARTUR, A. G., TANIGUCHI, C. A. K., RODRIGUES, M. C. P., ZOCCOLO, G. J. Microfiltered red-purple pitaya colorant: UPLC-ESI-QTOF-MSE-based metabolic profile and its potential application as a natural food ingredient. **Food Chemistry**, Fortaleza, [s.n.], p. 1-39, 2020.

LIRA, S. M.; DIONÍSIO, A. P.; HOLANDA, M. O.; MARQUES, C. G.; DILVA, G. S.; CORREA, L. C.; SANTOS, G. B. M.; ABREU, F. A. P.; MAGALHÃES, F. E. A.; REBOUÇAS, E. L.; GUEDES, J. A. C.; OLIVEIRA, D. F.; GUEDES, M. I. F.; & ZOCCOLO. Metabolic profile of pitaya (*Hylocereus polyrhizus* (F.A.C. Weber) Britton & Rose) by UPLC-QTOF-MSE and assessment of its toxicity and anxiolytic-like effect in adult zebrafish. **Food Research International**, Fortaleza, v. 127, n. 0, p.108701-0, jan. 2020.

LÓPEZ, M.L.; GUERRERO-LEGARRETA, I. A partial characterization of the red pigment from the Mexican fruit cactus “jiotilla”. **Revista Mexicana De Ingenieria Quimica**, [s.l.], v. 6, n. 1, p. 19–25, 2007.

LUZ, L. R., PORTO, D. D., CASTRO, C. B., SILVA, M. F. S., GODOY, A. F. E., CANUTO, K. M., BRITO, E.S., BECKER, H., DO Ó PESSOA, C., ZOCCOLO, 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**, Fortaleza, v. 1099, p.97-109, 2018.

MANACH, C.; SCALBERT, A.; MORAND, C.; RÉMÉSY, C.; JIMÉNEZ, L. Polyphenols: food sources and bioavailability”. **American Journal of Clinical Nutrition**, [s.l.], v. 79, p.727-47, 2004.

MARTINS N., RORIZ C., MORALES P., BARROSA L., FERREIRA I. Coloring attributes of betalains: A key emphasis on stability and future applications. **Food Function**. [s.l.], v. 8, p. 1357–1372, 2017.

MATTA, V. M. DA; CABRAL, L. M. C.; SILVA, L. F. M. Suco de acerola microfiltrado: avaliação da vida-de-prateleira. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Rio de Janeiro, v. 24, n. 2, p. 293–297, 2004.

MACFIE, H.J.; BRATCHELL, N.; GREENHOFF, K.; VALLIS, L. Projeto para equilibrar o efeito da ordem de apresentação e de primeira ordem efeitos carry-over em testes de salão. **Revista de Estudos Sensoriais**, Westport, v. 4, n. 2, p. 129-148, 1989.

MEILGAARD, M. C., CIVILLE, G. V., CARR, B. T. **Sensory Evaluation Techniques**. 5 ed. p.600, 2015.

MELLO, F. R.; Bernardo, C; Dias, C. O.; Gonzaga, L.; Amante, E. R.; Fett, R.; Candido, L. M. B. Antioxidant properties, quantification and stability of betalains from pitaya (*Hylocereus undatus*) peel. **MRS Proceedings**, Santa Catarina, v. 45, n. 2, p. 323–328, 2015

MERCADO-SILVA, E. M. Pitaya— *Hylocereus undatus* (Haw). **Exotic Fruits: Reference Guide**, Santiago de Querétaro, [s.l.], v. 1, n. 1, p.339-349, fev. 2018.

MIYAZAWA, M., PAVAN, M. A., MURAOKA, T., CARMO, C. A. F. S., & MELO, W. J.. **Análise química de tecido vegetal**. In: Silva, F. C. (Ed.). Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes. 2 ed. revisada e amplificada. Brasília, p.191–234, 2009.  
MOKRZYCKI, W. S., & TATOL, M. Color difference  $\Delta E$ : a survey. **Machine Graphics and Vision**, [s.l.], v. 20, n. 4, p.383-411, 2011.

MONTES-LORA, SANDRA; HURTADO, NELSON; MOSQUERA, NATALIA; HEREDIA, FRANCISCO J.; CEJUDO-BASTANTE, MARÍA JESÚS. Effect of technological practices on individual betalains and antioxidant activity of Columbian betalain-rich raw materials. **International Journal Of Food Science & Technology**, Bogotá, v. 51, n. 4, p.1041-1047, 22 fev. 2016.

MÜLLER-MAATSCH, J.; GRAS, C..The “Carmines Problem” and Potential Alternatives. **Handbook on Natural Pigments in Food and Beverages**. Stuttgart, 44 p., 2016.

NGAMWONGLUMLERT, LUXSIKA; DEVAHASTIN, SAKAMON; CHIEWCHAN, NAPHAPORN. Natural colorants: Pigment stability and extraction yield enhancement via utilization of appropriate pretreatment and extraction methods. **Critical Reviews In Food Science And Nutrition**, Bangkok, v. 57, n. 15, p.3243-3259, 30 out. 2015.

NUNES, E. N., SOUSA, A. S. B., LUCENA, C. M., SILVA, S. M., LUCENA, R. F. P., ALVES, C. A. B., ALVES, R. E. Pitaia (*Hylocereus* sp.): Uma revisão para o Brasil. **Gaia Scientia**, Paraíba, v. 8, n. 1, p.90-98, mar. 2014.

PERYAM, D.R.; PILGRIM, F.J. Hedonic scale method of measuring food preferences. **Food Technology**, [s.l.], v. 11, p. 9-14, 1957.

OBANDA, M., OWUOR, P. O., & TAYLOR, S. J.. Flavanol Composition and Caffeine Content of Green Leaf as Quality Potential Indication of Kenyan Black Teas. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, [s.l.], v. 74, p.209-215, 1977.

OLIVEIRA, M. M. T. **Sombreamento na fisiologia, produção e qualidade e efeito da temperatura nos aspectos moleculares da pitaia**. 2019. 121 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2019.

PROHORT. Programa Brasileiro de Modernização do Mercado Hortigranjeiro. Ministério da Agricultura. Dados: 2014. 2014. Disponível em: <http://dw.ceasa.gov.br/>. Acesso em: 26 mai. 2019.

PROHORT. Programa Brasileiro de Modernização do Mercado de Hortigranjeiro. Ministério da Agricultura. Dados 2018/2019. 2019. Disponível em: <http://dw.ceasa.gov.br/>. Acesso em: 14 mar. 2020.

POLTURAK, GUY; AHARONI, ASAPH. “La Vie en Rose”: Biosynthesis, Sources, and Applications of Betalain Pigments. **Molecular Plant**, Rehovot, v. 11, n. 1, p.7-22, jan. 2018.

RAVICHANDRAN, KAVITHA; SAW, NAY MIN MIN THAW; MOHDALY, ADEL A.A.; GABR, AHMED M.M.; KASTELL, ANJA; RIEDEL, HEIDI; CAI, ZHENZHEN; KNORR, DIETRICH; SMETANSKA, IRYNA. Impact of processing of red beet on betalain content and antioxidant activity. **Food Research International**, Berlin, v. 50, n. 2, p.670-675, mar. 2013.

RAZAK, UMMI NUR AIN ABDUL; TAHA, R.M.; MUSA, SITI AISHA NA'ILLA CHE; MOHAMED, NORMADIHA. Detection of betacyanins pigment stability from *Hylocereus polyrhizus* (Weber) Britton & Rose fruit pulp and peel for possible use as natural coating. **Pigment & Resin Technology**, Kuala Lumpur, v. 46, n. 4, p.303-308, jul. 2017.

REZENDE, I. F.; SOUSA, A. C. G; SUAREZ, N. F.; ROCHA, C. C.; RUFINI, J. C. M. Boletim de Extensão: O cultivo da Pitaya. Boletim de Extensão. Universidade Federal de São João Del Rei, 18 p. 2017.

RIBEIRO, B. D.; NASCIMENTO, R. P., PEREIRA, K. S., COELHO, M. A. Z. **Microbiologia industrial vol 2: Alimentos**. LTC, 2018.

ROCA, E.; LEMONNIER, P.; ROUBILLE, R.. **Carmine food coloring composition with high stability**. Depositante: Chr Hansen Natural Color As. USA n. US9192183B2. Depósito: 30 mar. 2012. Concessão: 24 nov. 2015.

SANTOS, C. D., SCHERER, R. K., CASSINI, A. S., MARCZAK, L. D. F., & TESSARO, I. C. Clarification of red beet stalks extract by microfiltration combined with ultrafiltration. **Journal of Food Engineering**, Porto Alegre, v. 185, p.35-41, 2016.

SANTOS, G. B. M.; DIONÍSIO, A. P.; MAGALHÃES, H. C. R.; ABREU, F. A. P.; LIRA, S. M.; LIMA, A. C. V.; SILVA, G. S.; GUEDES, J. A. C.; ARAÚJO, I. M. S.; ARTUR, A. G.; PONTES, D. F.; & ZOCOLO, G. J. Effects of processing on the chemical, physicochemical, enzymatic, and volatile metabolic composition of pitaya (*Hylocereus polyrhizus* (F.A.C. Weber) Britton & Rose). **Food Research International**, Fortaleza, v. 127, p.108710, jan. 2020.

SARMENTO, J. D. A. **Qualidade, compostos bioativos e conservação da pitaiá (*Hylocereus polyrhizus*) no semiárido brasileiro**. 2017. 146 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, 2017.

SCHWEIGGERT, R. M. Perspective on the Ongoing Replacement of Artificial and Animal-Based Dyes with Alternative Natural Pigments in Foods and Beverages. **Journal Of Agricultural And Food Chemistry**, Hohenheim, v. 66, n. 12, p.3074-3081, mar. 2018.

SCHWARTZ, S. J.; VON ELBE, J. H. Identification of betanina degradation products. **Z. Lebensm. Unters. Forsch.**, v. 176, p.448–453, 1983.

SIES, H; & STAHL, W. Vitamins E and C, beta-carotene, and other carotenoids as antioxidants. **The American Journal of Clinical Nutrition**, [s.l.], v. 62, n. 6, p. 1315-1321, 1995.

SIGURDSON, G. T.; TANG, P.; GIUSTI, M. M. Natural Colorants: Food Colorants from Natural Sources. **Annual Review Of Food Science And Technology**, Columbus, v. 8, n. 1, p.261-280, jan. 2017.

SILVA, A.C. C. **PITAYA: MELHORAMENTO E PRODUÇÃO DE MUDAS**. 2014. 142 f. Tese (Doutorado) - Curso de Agronomia (produção Vegetal), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2014.

SLIMEN, I. B.; NAJAR, T.; ABDERRABBA, M. Chemical and Antioxidant Properties of Betalains. **Journal Of Agricultural And Food Chemistry**, Tunis, v. 65, n. 4, p.675-689, jan. 2017.

SORIANO-SANTOS, J.; FRANCO-ZAVALETA, M.E.; PELAYO-ZALDÍVAR, C.; ARMELLA-VILLALPANDO, M.A.; YÁÑEZ-LÓPEZ, M. L.; GUERRERO-LEGARRETA, I. Caracterización parcial del pigmento rojo del fruto de la "Jiotilla" (*Escontria chiotilla* [Weber] Britton & Rose). **Revista Mexicana de Ingeniería Química**, [s.l.], v. 6, n. 1, p. 19-25, 2007.

STINTZING, F. C.; CARLE, R. Betalains - emerging prospects for food scientists. **Trends in Food Science and Technology**, Stuttgart, v. 18, n. 10, p. 514–525, 2007.

STINTZING, F. C., SCHIEBER, A., CARLE, R. Betacyanins in fruits from red-purple pitaya, *Hylocereus polyrhizus* (Weber) Britton & Rose. **Food Chemistry**, Stuttgart, v. 77, n. 1, p.101-106, 2002.

STINTZING, F. C.; KAMMERER, D.; SCHIEBER, A.; ADAMA, H.; NACOUJMA, O. G.; CARLE, R. Betacyanins and phenolic compounds from *Amaranthus spinosus* L. and *Boerhavia erecta* L. **Z. Naturforsch., Journal of Biosciences**, Stuttgart, v. 59, p. 1–8, 2004.

STRACK, DIETER; VOGT, THOMAS; SCHLIEMANN, WILLIBALD. Recent advances in betalain research. **Phytochem**, Halle, v. 62, n. 0, p.247-269, 2003.

TOURNAS, V., STACK, M. E., MISLIVEC, P. B., KOCH, H. A., & BANDLER, R. (2001). Yeasts, molds and mycotoxins. **In Food and Drug Administration – FDA (Ed.), Bacteriological Analytical Manual (BAM)**, Chap. 18, 2001.

VERGARA, CRISTINA; CANCINO-MADARIAGA, BEATRIZ; RAMÍREZ-SALVO, ANDRÉS; SÁENZ, CARMEN; ROBERT, PAZ; LUTZ, MARIANE. Clarification of purple cactus pear juice using microfiltration membranes to obtain a solution of betalain pigments. **Brazilian Journal of Food Technology**, Santiago, v. 18, n. 3, p.220-230, set. 2015.

VIZZOTTO, M.; SCHIAVON, M. V.; PEREIRA, E. S.; MUNHOZ, P. C.; FONSECA, L. X.; FERRI, N. M. L.; KROLOW, A. C. Caracterização físico-química, composição mineral e compostos bioativos em duas espécies de pitaias da Região Sul do Brasil. **Boletim de pesquisa e desenvolvimento** 343. Pelotas, [s.n.], 2016.

VOLP, A. C. P.; RENHE, I. R. T.; STRINGUETA, P. C. Pigmentos naturais bioativos. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, Viçosa, v. 20, n. 1, p. 157–166, 2009.

WALKELING, I. N.; MACFIE, J. H. Designing consumer trials balanced for first and higher orders of carry-over effect when only a subset of k samples from t may be tested. *Food Quality and Preference*. Oxford, v.6, n.4, p.299-308, 1995.

WANG, J., & SPORNS, P. MALDI-TOF M.S. Analysis of food flavonol glycosides. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s.l.], v. 48, n.5, p.1657–1662, 2000.

WEI, W., CHENG, M. N., BA, L. J., ZENG, R. X., LUO, D. L., QIN, Y. H., & SHAN, W.. Pitaya HpWRKY3 is associated with fruit sugar accumulation by transcriptionally modulating sucrose metabolic genes HpINV2 and HpSuSy1. **International Journal of Molecular Sciences**, [s.l.], v. 20, n. 8, p.1–15, 2019.

WHO (2012). Guideline: Potassium intake for adults and children. Geneva, World Health Organization (WHO). Disponível em: [https://www.who.int/elena/titles/guidance\\_summaries/potassium\\_intake/en/](https://www.who.int/elena/titles/guidance_summaries/potassium_intake/en/). Acesso em: 28 fev. 2020.

WICHIENTHOT, S., JATUPORNPIPAT, M., RASTALL, R. A. Oligosaccharides of pitaya (dragon fruit) flesh and their prebiotic properties. **Food Chemistry**, Bangkok, v. 120, n. 3, p.850–857, 2010.

WU, LI-CHEN; HSU, HSIU-WEN; CHEN, YUN-CHEN; CHIU, CHIH-CHUNG; LIN, YU-IN; HO, JA-AN ANNIE. Antioxidant and antiproliferative activities of red pitaya. **Food Chemistry**, Nantou, v. 95, n. 2, p.319-327, mar. 2006.

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**, Nantou, v. 58, p.5347–5354, 2010.

WYBRANIEC, S., STARZAK, K., SKOPINSKA, A., NEMZER, B., PIETRZKOWSKI, Z., & MICHALOWSKI, T. Studies on nonenzymatic oxidation mechanisms in neobetanin, betanin, and decarboxylated betanins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Nantou, v. 61, n.26, p.6465-6476, 2013.

YEE, L. P.; WAH, C. S. Application of red pitaya powder as a natural food colourant in fruit pastille. **Jurnal Gizi Klinik Indonesia**, Selangor, v. 13, n. 3, p.111-120, jan. 2017.

YI, Y., WU, J., WANG, Y., YE, W., ZHANG, Q. (2011). Studies on the flavonoids from the flowers of *Hylocereus undatus*. **Journal of Chinese Medicinal Materials**, [s.l.], v. 34, n. 5, p.712-718, 2011.