

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
CURSO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

Anderson Kaiszewski Coutinho

**CINÉTICA DE DEGRADAÇÃO DAS BETALAÍNAS EM SUCO DE
PITAYA TRATADO VIA AQUECIMENTO ÔHMICO E CONVENCIONAL**

Porto Alegre

2023

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
CURSO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

Anderson Kaiszewski Coutinho

**CINÉTICA DE DEGRADAÇÃO DAS BETALAÍNAS EM SUCO DE PITAYA
TRATADO VIA AQUECIMENTO ÔHMICO E CONVENCIONAL**

Trabalho de Conclusão de Curso de graduação em Engenharia de Alimentos apresentado ao Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito parcial para obtenção do título de Engenheiro de Alimentos.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Giovana Domeneghini Mercali

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Simone Hickmann Flores

Coorientadora: Mestra Michele Utpott

Porto Alegre

2023

CINÉTICA DE DEGRADAÇÃO DAS BETALAÍNAS PRESENTES EM SUCO DE PITAYA TRATADO POR AQUECIMENTO ÔHMICO E CONVENCIONAL

Anderson Kaiszewski Coutinho

Trabalho de Conclusão de Curso de graduação em Engenharia de Alimentos apresentado ao Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito parcial para obtenção do grau de Engenheiro de Alimentos.

Aprovado em: 04 de abril de 2023

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Prof^a. Giovana Domeneghini Mercali
Engenheira de Alimentos (UFRGS) e Dr^a. em Engenharia Química (UFRGS)

Coorientadora: Prof^a. Simone Hickmann Flores
Engenheira Química (PUC/RS) e Dr^a. em Engenharia de Alimentos (UNICAMP)

Coorientadora: Michele Utpott
Engenheira de Alimentos (UFRGS), Mestre e Doutoranda em Ciência e Tecnologia de Alimentos (UFRGS)

Prof^o Alessandro de Oliveira Rios
Agrônomo (UFLA) e Dr. em Ciência de Alimentos (UNICAMP)

Victória Hermes de Vargas
Engenheira Química (UFSM), Mestre e Doutoranda em Engenharia Química (UFRGS)

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha mãe, Eloí, quem sempre me incentivou e teve fé em mim, e até mesmo nos momentos mais difíceis, contribuiu para que eu pudesse chegar até aqui. Também ao meu pai, João Carlos, por todo suporte.

Agradeço aos meus colegas de graduação que estiveram comigo, pelo companheirismo e amizade ao longo desse ciclo que é a graduação. Também, aos amigos de longa data de fora da universidade, os quais também foram peça fundamental na minha vida ao longo deste trajeto.

A todos os professores do Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos da UFRGS, que através de suas aulas e atividades de pesquisa e extensão, proporcionaram-me crescimento profissional e pessoal para chegar até aqui. Também aos demais professores de outros institutos e departamentos da UFRGS que marcaram esta trajetória.

Em especial, aos professores e colegas do Laboratório de Compostos Bioativos do ICTA, durante o meu período como bolsista de iniciação tecnológica, onde muito aprendi sobre pesquisa.

Agradeço às professoras Giovana e Simone por terem me aceitado como orientado e não medirem esforços para me auxiliar ao longo da execução deste trabalho, sempre me instruindo e me mostrando o caminho para trilhar.

De igual forma, agradeço à Michele por ter me aceitado como parte do seu projeto ao me oportunizar trabalhar com o suco de pitaya, além de seu auxílio ao longo de todos os experimentos, análises e testes. Sem ela, nada disso seria possível.

RESUMO

A pitaya vermelha (*Hylocereus polyrhizus*) tem atraído consumidores em vista dos seus benefícios enquanto alimento funcional. O suco desta fruta ainda possui poucas abordagens na literatura e carece de parâmetros para processamento em escala industrial. O presente estudo objetivou avaliar a estabilidade das betalaínas, principal classe de compostos presente na pitaya vermelha de polpa vermelha, bem como em seu respectivo suco. O estudo avaliou a cinética de degradação das betalaínas frente ao tratamento térmico convencional em comparação com o aquecimento ôhmico, uma tecnologia emergente utilizada para pasteurização. O suco da pitaya vermelha foi tratado em três temperaturas (70, 80 e 90°C), e amostras foram coletas ao longo do experimento cinético, sendo, posteriormente, analisadas quanto ao teor de betalaínas por meio da espectroscopia do ultravioleta visível e cromatografia líquida de alta eficiência. As amostras foram avaliadas também quanto à coloração, através dos parâmetros L^* , a^* , b^* para obtenção da diferença total de cor, grau de saturação e ângulo de tonalidade. A espectroscopia do ultravioleta visível mostrou-se uma técnica satisfatória para quantificação de betalaínas com valores de correlação de Pearson elevados quando correlacionada com a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência. A cinética apresentou maiores taxas de degradação de betalaínas quando a tecnologia de aquecimento ôhmico foi aplicada nas três temperaturas avaliadas. A betanina e a isobetanina apresentaram divergente comportamento durante o aquecimento. As betalaínas se mostraram estáveis nos experimentos cinéticos de 70, 80 e 90°C pelo aquecimento convencional, enquanto houve degradação de até 60% na tecnologia de aquecimento ôhmico para as mesmas temperaturas. A degradação durante o aquecimento ôhmico foi associada à ocorrência de reações eletroquímicas, como eletrólise da água e de ácidos fracos e corrosão dos eletrodos, que liberam no meio metais e radicais livres que podem catalisar as reações de degradação de betalaínas.

Palavras-chave: pitaya; suco de pitaya; betalaínas; aquecimento ôhmico; tratamento térmico; compostos bioativos.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	7
2. OBJETIVOS	9
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	10
3.1. Pitaya Vermelha	10
3.1.1. Suco de Pitaya	11
3.1.1.1. Composição	13
3.1.1.1.1. Betalaínas	15
3.2. Tratamento Térmico	22
3.2.1. Aquecimento Convencional	25
3.2.2. Aquecimento Ôhmico	27
4. MATERIAIS E MÉTODOS	32
4.1. Suco de Pitaya	32
4.2. Tratamento Térmico via Aquecimento Ôhmico	33
4.3. Tratamento Térmico via Aquecimento Convencional	36
4.4. Análises	38
4.4.1. Determinação de Betacianinas por Espectroscopia do Ultravioleta Visível	38
4.4.2. Determinação de Betalaínas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência	38
4.4.3. Determinação de Cor	39
4.4.4. Análise Estatística	40
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
5.1. Análise de Betalaínas via HPLC	41
5.2. Cinética de degradação de betalaínas durante aquecimento ôhmico e aquecimento convencional	42
5.3. Avaliação individual da cinética de degradação dos isômeros betanina e isobetanina	51
5.4. Análises colorimétricas	54
6. CONCLUSÕES	57
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58

1. INTRODUÇÃO

A pitaya vermelha de polpa vermelha (*Hylocereus polyrhizus*) é uma fruta tropical que tem sido cada vez mais procurada pelos brasileiros devido às suas propriedades funcionais e alegações nutricionais. Contudo, a vida útil de frutas *in natura* é baixa, o que dificulta seu consumo e aumenta as perdas pós-colheita. Em função disso, a indústria de alimentos tem buscado atender essa demanda disponibilizando derivados da fruta que têm uma vida útil mais longa, tal como sucos, polpas, doces e geléias.

Um dos métodos de conservação mais utilizados para estender a vida útil de sucos é a aplicação de tratamento térmico, com intuito de reduzir carga microbiana e inativar enzimas capazes de contribuir para a deterioração da bebida. Sendo assim, é possível prover sucos seguros ao consumidor durante um maior tempo; entretanto, a aplicação do calor tende a causar alterações indesejáveis no perfil sensorial e nutricional da bebida como perdas de vitaminas termolábeis, compostos bioativos, além da produção de aromas e sabores desagradáveis, a depender do tempo e da temperatura aplicados.

A crescente demanda dos consumidores por alimentos seguros, mas que também possuam alto valor agregado em termos nutricionais e sensoriais, tem incentivado os pesquisadores a desenvolver novos métodos de conservação e novas tecnologias para o processamento de alimentos, aliando segurança à qualidade. As tecnologias emergentes para o processamento de alimentos, assim chamadas devido ao seu ainda baixo alcance na indústria, têm apresentado resultados promissores em estudos visando substituir processos já consagrados, dentre eles, destaca-se a pasteurização e esterilização de alimentos.

O aquecimento ôhmico, ou aquecimento joule, é uma tecnologia emergente térmica que consiste na aplicação de um campo elétrico sobre o alimento, de modo que a dissipação da energia elétrica em energia térmica no interior do produto faça com que sua temperatura seja elevada. O calor é gerado internamente no próprio alimento, o que permite um tempo de aquecimento muito menor e, conseqüentemente, uma menor exposição do alimento ao calor, o que contribui para uma maior retenção de nutrientes e compostos sensíveis ao calor.

Para que tal tecnologia possa ser utilizada em escala industrial em diferentes aplicações, é preciso avançar em termos de permissão legal por parte dos órgãos competentes. Para tanto, são necessários estudos comprovando os reais efeitos da mesma sobre os aspectos de segurança e qualidade dos alimentos.

A literatura ainda carece de estudos abordando a estabilidade e comportamento das betalaínas frente a novos métodos e tecnologias emergentes. As betalaínas são compostos bioativos responsáveis pela pigmentação da pitaya. Estão presentes em alto conteúdo na polpa e no suco da pitaya vermelha; contudo, apresentam instabilidade frente a vários fatores, dentre eles as altas temperaturas utilizadas nos processos de pasteurização do suco. Nesse contexto, faz-se necessário a determinação de parâmetros cinéticos para avaliação de sua estabilidade frente a novos métodos de processamento, tais como o aquecimento ôhmico. Esse trabalho visa, portanto, avaliar a estabilidade térmica da principal classe de compostos bioativos presentes no suco de pitaya vermelha, as betalaínas, durante tratamento térmico pelo processo convencional e aquecimento ôhmico. A partir dos dados de cinética de degradação de betalaínas, é possível dimensionar os processos térmicos de forma a otimizar os parâmetros de qualidade, mantendo a segurança do produto.

Esse documento está estruturado na forma descrita a seguir. O Capítulo 2 estabelece os objetivos gerais e específicos do trabalho. O Capítulo 3 destina-se ao referencial bibliográfico, incluindo aspectos relacionados à pitaya vermelha, sua composição e formas de processamento, além de conceitos de processamento térmico em alimentos, abordando as técnicas convencionais e a tecnologia emergente do aquecimento ôhmico. O Capítulo 4 descreve as condições experimentais e as metodologias adotadas para a realização dos tratamentos propostos. Os resultados e discussões são abordados no Capítulo 5. Por fim, no Capítulo 6, encontram-se as considerações finais e conclusões.

2. OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho foi avaliar e comparar a estabilidade térmica da principal classe de compostos bioativos presentes no suco de pitaya vermelha, as betalaínas, durante tratamento térmico pelo processo convencional e aquecimento ôhmico.

Os objetivos específicos deste estudo envolvem:

- avaliar a degradação de betalaínas em suco de pitaya submetido a aquecimento convencional nas temperaturas de 70, 80 e 90°C;
- avaliar a degradação de betalaínas em suco de pitaya submetido a aquecimento ôhmico nas temperaturas de 70, 80 e 90°C;
- comparar o aquecimento ôhmico e o aquecimento convencional, avaliando os efeitos não térmicos da tecnologia de aquecimento ôhmico na degradação das betalaínas;
- determinar a variação de cor do suco ao longo do tratamento, bem como sua correlação com a retenção das betalaínas;
- avaliar a correlação existente entre a variação dos isômeros betanina e isobetanina por meio da cromatografia líquida de alta eficiência.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A presente revisão aborda os principais tópicos envolvendo a matéria-prima e as tecnologias envolvidas no estudo do processamento do suco de pitaya vermelha. Além disso, são abordados aspectos relacionados às betalainas, principal classe de compostos bioativos presente na fruta e no suco.

3.1. Pitaya Vermelha

A pitaya vermelha de polpa vermelha (*Hylocereus polyrhizus*), também chamada de pitaya roxa devido à variação de tons de sua coloração, é uma fruta tropical popularmente conhecida como “fruta do dragão” em razão de sua casca com escamas; pertencente à família cactácea, essa fruta provém de cactos epífitos e se origina da América Latina em regiões de florestas tropicais, estando distribuída em países como o Brasil, Uruguai, Colômbia, Venezuela, Panamá, Costa Rica e México. A Figura 1 mostra a aparência da fruta e de sua polpa.

Figura 2 - Pitaya vermelha de polpa vermelha *in natura*.



Fonte: Autor desconhecido.

A pitaya de polpa vermelha apresenta grande interesse por parte dos consumidores uma vez que é fonte de oligossacarídeos, considerados prebióticos,

característica que permite sua aplicação como ingrediente funcional. Além disso, esta fruta possui teores significativos de vitamina C e de minerais, em especial ferro, magnésio, fósforo, zinco, potássio e sódio (MOHD ADZIM *et al.*, 2006; WICHIENTHOT *et al.*, 2010).

De acordo com Zee, Yen e Nishina (2004), a pitaya é uma fruta não climatérica, o que significa que a mesma não passa por maturação significativa pós-colheita em virtude de não produzir o gás etileno, conhecido como fitormônio. Apesar disso, segundo os autores, a pitaya é sensível à baixas temperaturas, podendo sofrer dano pelo frio.

Abaixo estão elencados principais aspectos do suco extraído da pitaya, seu processamento e sua composição.

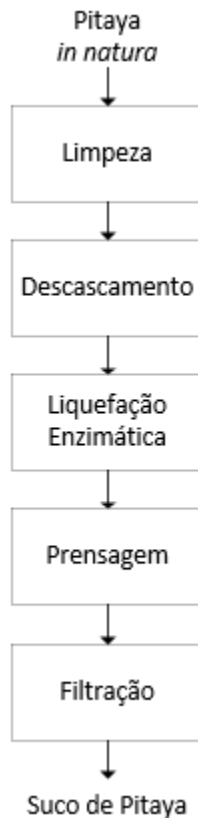
3.1.1. Suco de Pitaya

O suco de pitaya vermelha não é um produto amplamente industrializado para consumo até o presente momento no Brasil. Algumas marcas se utilizam do dizer “sabor pitaya” na denominação de venda de bebidas como chás e energéticos, contudo, isto indica a presença de aromatizantes; de fato, não existe nada da verdadeira pitaya presente nesse tipo de produto.

Devido à escassez de dados da indústria e de mercado, é necessário recorrer aos artigos científicos ou sites de culinária ao buscar sobre seu preparo. Contudo, o recente aumento da procura pela pitaya como fruta exótica tende a mudar essa realidade, abrindo portas para a popularização de seus derivados, tais como o suco.

A Figura 2 apresenta o fluxograma de processamento para obtenção do suco de pitaya.

Figura 2 – Fluxograma de processamento para obtenção do suco de pitaya.



Fonte: Adaptado de Kirti Jalgaonkar *et al.* (2020).

O processo, embora desenhado para escala de bancada, permite visualizar as principais operações unitárias envolvidas na extração do suco de pitaya. Inicialmente, tem-se a limpeza e descascamento das frutas. Em sequência, ocorre a remoção da polpa, sobre a qual é realizado um processo de liquefação enzimática, ou despectinização, com o intuito de hidrolisar polissacarídeos da parede celular da polpa a fim de liberar compostos solúveis e facilitar a extração do suco, aumentando seu rendimento na etapa de prensagem. Por fim, o suco é filtrado e está pronto para o consumo *in natura* ou para tratamento térmico e posterior envase.

O suco de pitaya possui alta turbidez e viscosidade, o que o torna pouco palatável ao consumidor. Em razão disso, o processo de clarificação enzimática se faz necessário

a fim de aumentar a aceitabilidade quanto à sua textura e sabor, além de melhorar sua aparência já que as enzimas degradam a pectina solúvel e os amidos responsáveis pela turbidez (Nur Aliaa, A. R. *et al.*, 2010).

A seguir, alguns aspectos de composição do suco de pitaya são abordados.

3.1.1.1. Composição

A literatura carece de estudos abordando a composição centesimal e a composição de compostos bioativos presentes na pitaya vermelha, em especial no suco extraído da mesma.

A qualidade sensorial do suco de pitaya vermelha é baixa (por isso ele raramente é consumido sozinho) devido a sua baixa acidez titulável, que varia de 2,4 a 3,4 g L⁻¹. Os principais ácidos orgânicos responsáveis por esta acidez são o ácido cítrico e o ácido láctico (Stintzing *et al.*, 2003). Nunes *et al.* (2014) verificaram valores de 9 mg de ácido ascórbico por 100 g de polpa e umidade aproximada de 85,52 g a cada 100 g.

Santana (2019) realizou a caracterização do suco de pitaya vermelha da espécie *Hylocereus costaricensis* e os resultados obtidos pelo autor são apresentados na Tabela 1. Outros autores relataram um valor de pH de 4,09. Abreu *et al.* (2012) verificaram pH de 4,88 para a polpa de pitaya vermelha da espécie *H. polyrhizus*. Stintzing *et al.* (2004) determinaram um pH de 4,85 e 4,40 para pitayas das espécies *H. undatus* e *H. polyrhizus*, respectivamente. Cordeiro *et al.* (2015) encontraram pH ainda mais alto, de 5,32 para a polpa desta última espécie. É importante notar que o pH da polpa e do suco podem oscilar devido à efetividade da extração dos ácidos orgânicos.

Tabela 1 - Características relacionadas à composição do suco de pitaya vermelha (*Hylocereus costaricensis*).

Item	Valor
Teor de betacianinas (mg/L)	86,31 ± 5,16
Massa específica (g/mL)	1,865 ± 0,02
Teor de sólidos totais (%)	10,39 ± 0,09
Sólidos solúveis totais (°Brix)	11,5 ± 0,07
Atividade antioxidante (mg eq. ácido gálico/g)	5,18 ± 1,91
Compostos fenólicos totais (mg eq. ácido gálico/g)	136,91 ± 0,09
pH (25°C)	4,09 ± 0,02

Fonte: SANTANA, Daniela Lira de. 2019

Santana (2019) relatou uma massa específica do suco de 1,865 g mL⁻¹, valor elevado em relação à água pura, que possui em média 1,0 g mL⁻¹, o que indica uma possível alta viscosidade, embora este parâmetro reológico não tenha sido aferido neste estudo. Stintzing *et al.* (2003), por outro lado, encontraram uma massa específica de 1,043 g mL⁻¹ a 20°C, valor mais próximo ao da água. Os mesmos autores ainda verificaram um pH de 4,40 para o suco da pitaya *H. polyrhizus*, corroborando com o supracitado de que o suco pode possuir acidez mais elevada do que a polpa. O teor de ácido cítrico encontrado pelos autores foi de 579 mg L⁻¹ e acidez total titulável de 3,4 g L⁻¹. A relação de sólidos solúveis totais para acidez total titulável (SS/AT) foi de 22:1, parâmetro muito importante para a avaliação da qualidade sensorial de frutas, sendo o mais utilizado por expressar o equilíbrio entre as variáveis de doçura e acidez, os quais impactam significativamente na percepção de sabor do consumidor (Chitarra & Chitarra, 2005).

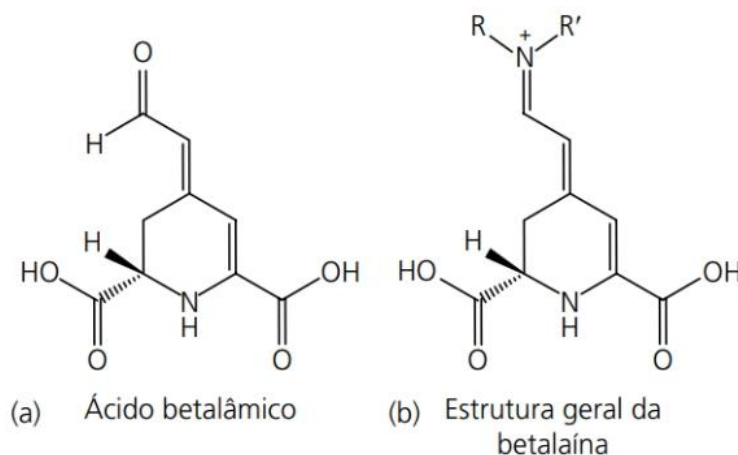
A seguir encontra-se uma revisão referente às betalaínas, sua estrutura e fatores que afetam sua estabilidade. As betalaínas são a principal classe de compostos bioativos presentes no suco da pitaya vermelha, bem como em sua polpa.

3.1.1.1.1. Betalaínas

As betalaínas são compostos bioativos que apresentam atividade antioxidante, assim como as antocianinas, compostos fenólicos e carotenoides presentes em diversas frutas; apresentam cor similar às plantas e frutas contendo antocianinas, entretanto sua coloração é pouco afetada por variações de pH. São compostos hidrossolúveis e estão presentes nos vacúolos de células vegetais como sais internos. Sua hidrofiliabilidade é ainda superior à das antocianinas, podendo ser extraídas de plantas utilizando puramente água (DARMODARAN & PARKIN, 2017).

A estrutura das betalaínas se baseia na presença do ácido betalâmico (Figura 3a) condensado com uma amina primária ou secundária (Figura 3b).

Figura 3 - Estrutura química do ácido betalâmico e das betalaínas.

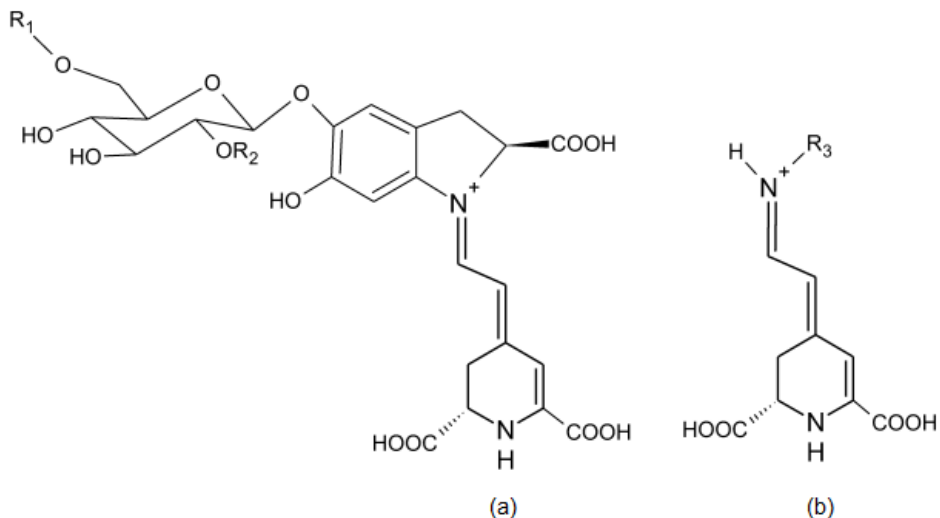


Fonte: Adaptado de DARMODARAN & PARKIN (2019).

As betalaínas podem ser classificadas em dois subgrupos: betacianinas e betaxantinas. Ambos possuem estrutura bastante similar, contudo as diferentes conjugações destes compostos impactam diretamente em sua coloração. As betacianinas (Figura 4a) apresentam um ciclo-3,4-dihidroxifenilalanina (ciclo-dopa) no seu radical, e devido ao anel aromático no ciclo-dopa, sua absorção máxima de luz desloca-se para próximo de 540 nm, o que às confere uma coloração vermelho-violeta. Já as betaxantinas (Figura 4b), ao invés do ciclo-dopa, apresentam radical amina ou grupo aminoácido, o que leva sua absorção máxima de luz para um comprimento de

onda de aproximadamente 480 nm, lhes conferindo coloração amarelo-alaranjado (AZEREDO, 2009).

Figura 4 - Estrutura geral das betacianinas (a) e betaxantinas (b).

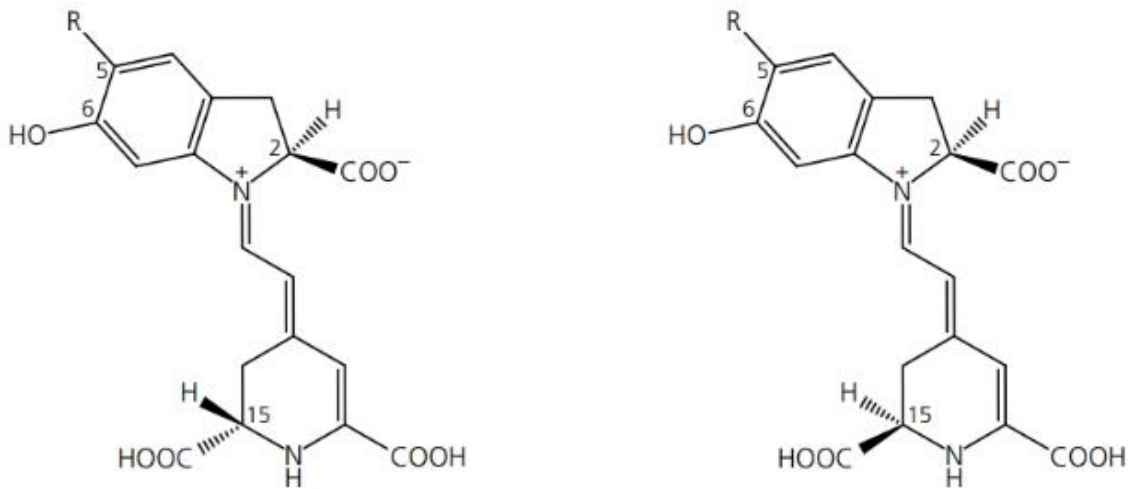


Fonte: Adaptado de DARMODARAN & PARKIN (2019).

Na natureza, é possível encontrar ambas classes de betalaínas nas frutas e hortaliças, sendo que a diferença de coloração observada se deve à proporção de betacianinas para betaxantinas presentes em cada planta. A pitaya vermelha (*H. polyrhizus*), por exemplo, possui um conteúdo de betalaínas composto de 70 a 80% betacianinas e de 20 a 30% betaxantinas (Stintzing *et al.* 2003).

Em geral, as betacianinas são mais abundantes na natureza, possuindo maior número de estudos a seu respeito. Este subgrupo possui atividade óptica devido ao carbono quiral C-15, portanto possuindo epímeros. As estruturas de algumas betacianinas já elucidadas encontram-se na Figura 5.

Figura 5 – Estruturas de diferentes betacianinas.



- (a) Betanidina, R = OH
- (b) Betanina, R = glicose
- (c) Amarantina, R = 2'-ácido glicurônico-glicose
- (d) Filocactina, R = 6'-malonil-glicose
- (e) Hilocerenina,
R = 6'-(3"-hidroxi-3"-metilglutaril)-glicose

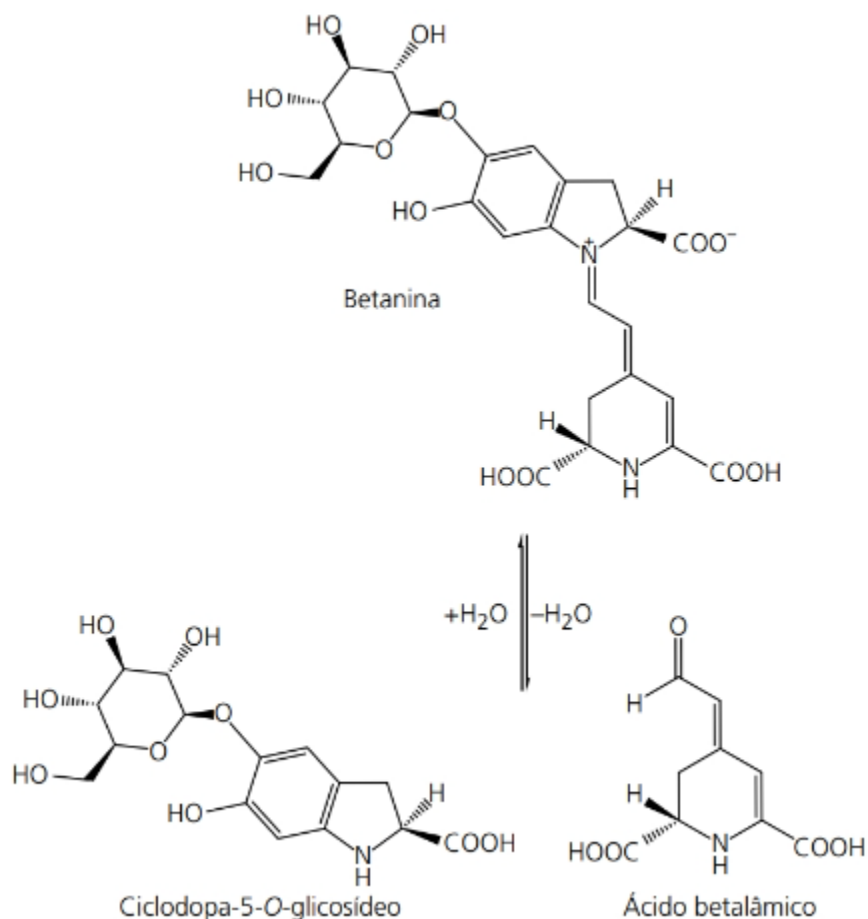
- (f) Isobetamidina, R = OH
- (g) Isobetanina, R = glicose
- (h) Isoamarantina, R = 2'-ácido glicurônico-glicose
- (i) Isofilocactina, R = 6'-malonil-glicose
- (j) Iso-hilocerenina,
R = 6'-(3"-hidroxi-3"-metilglutaril)-glicose

Fonte: Adaptado de DARMODARAN & PARKIN (2019).

As betacianinas diferem entre si devido aos diferentes radicais substituintes no carbono C-5, sendo que os epímeros possuem mesmo substituinte, porém com rotação da carboxila e do hidrogênio ligados ao carbono quiral C-15.

A betanina é a principal representante desse grupo, tendo sido uma das primeiras a ser identificada e o principal pigmento presente na beterraba, que é um dos principais alimentos fonte de betalainas. Sabe-se que em valores de pH alcalino, a betanina pode ser hidrolisada a ácido betalâmico (BA) e ciclo-dopa 5-O-glicosídeo (CDG), o que altera a coloração de vermelho para amarelo devido à absorção máxima do BA em torno de 430 nm (SCHWARTZ & VON ELBE, 1983). A principal reação de degradação da betanina por hidrólise é apresentada na Figura 6.

Figura 6 – Reação de degradação da betanina via hidrólise.



Fonte: Adaptado de DARMODARAN & PARKIN (2019).

Estudos mostram que a reação de degradação da betanina em BA e CDG é parcialmente reversível, havendo regeneração da betanina após aquecimento da mesma em solução seguido de resfriamento em temperaturas inferiores a 10°C. Especialmente na faixa de pH de 4,0 a 5,0, em que a betanina é mais estável, essa reação de restauração é maximizada (HUANG & VON ELBE, 1985, 1987). A reação proposta consiste basicamente na condensação da amina do CDG com o aldeído do BA.

Na indústria de beterrabas enlatadas, em que são submetidas a tratamento térmico, por exemplo, adota-se o procedimento de analisar a cor do produto somente horas após o processamento, em razão dessa reação inversa que causa a regeneração da betanina (DARMODARAN & PARKIN, 2019).

A degradação da betanina em BA e CDG também ocorre durante o aquecimento da mesma em soluções ácidas ($\text{pH} < 4,0$), contudo em menor velocidade.

É importante salientar que a reação de hidrólise necessita de conteúdo de água livre para ocorrer. Na ausência de água livre, a betanina é bastante estável, de modo que uma redução na atividade de água (a_w) incorre em uma queda na taxa de degradação da mesma, sendo, portanto, um ótimo pigmento para utilização como corante em pó (PASCH & VON ELBE, 1975). Todavia, estudos já mostraram que a a_w em que ocorre maior degradação da betanina é de 0,64, sendo, portanto, mais prejudicial para estabilidade deste pigmento uma a_w intermediária do que uma alta a_w , próxima de 1,0, por exemplo (SERRIS & BILIADERIS, 2001).

A betanina (Figura 5b) possui um epímero isobetanina (Figura 5g). Sob altas temperaturas ou meios ácidos, é comum que a proporção de isobetanina para betanina aumente. Entretanto, a coloração do alimento, em geral, permanece inalterada já que a epimerização não altera a absorção de luz UV do composto.

A betanina também pode ser degradada a descarboxil-betanina, composto de coloração vermelho-alaranjado, se submetida ao aquecimento, perdendo seu carbono quiral e liberando gás carbônico (CO_2). A descarboxilação é acelerada em meio ácido. Outra reação de degradação térmica envolve a formação de neobetaninas, de cor alaranjada, através de desidrogenação da betanina.

A pitaya vermelha contém algumas betalaínas comuns às plantas cactáceas, como a filocactina e a hilocerenina, duas betacianinas aciladas, sendo que seus mecanismos de degradação predominantes são a descarboxilação e desidrogenação (Wybraniec *et al.*, 2009; Herbarch *et al.*, 2006).

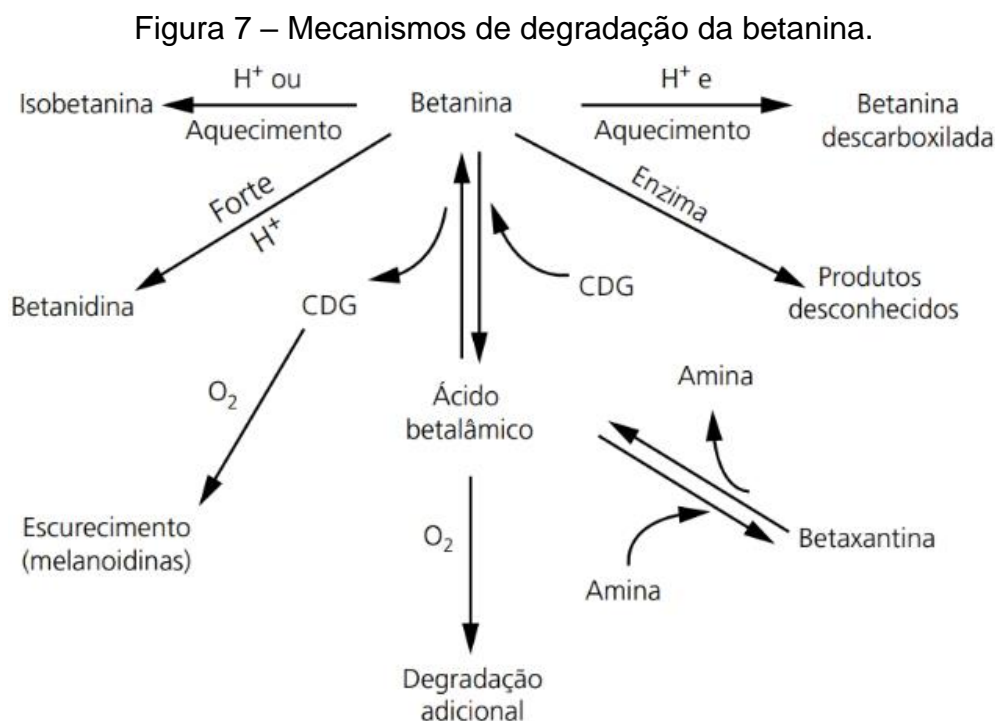
A presença de oxigênio no meio em que as betalaínas se encontram também pode causar sua degradação. Estudos mostram que a cinética de degradação da betanina é de primeira ordem quando exposta a excesso de oxigênio no meio, desviando-se quando a concentração deste se aproxima do teor de betanina. Além disso, a exposição à luz também acelera sua taxa de degradação por conta da oxidação fotoquímica, como foi demonstrado para suco de pitaya roxa por Herbarch (2007). As betalaínas são compostos muito suscetíveis à degradação oxidativa, tanto com ou sem exposição à luz, pelo fato

de possuírem atividade antioxidante como os demais compostos bioativos (Wettasinghe *et al.*, 2002).

Alguns antioxidantes contendo enxofre como sulfitos e derivados apresentaram efeito negativo sobre a estabilidade das betanina, acelerando a degradação do pigmento (Attoe & Von Elbe, 1981).

Com relação ao efeito de enzimas, pode-se dizer que as betalaínas são suscetíveis à degradação pela ação da peroxidase, contudo as betacianinas mostraram perda maior em relação às betaxantinas em estudo envolvendo beterraba (WASSERMAN, 1984). Ademais, a enzima polifenoloxidase, responsável pelo escurecimento enzimático na maioria de frutas e hortaliças, também é capaz de degradar as betalaínas. Essas enzimas podem ser inativadas na beterraba se expostas a 5 minutos sob temperaturas mínimas de 70 e 80°C para peroxidase e polifenoloxidase, respectivamente (Im, Parkin & Von Elbe, 1990).

A Figura 7 resume os principais mecanismos de degradação da betanina já estudados.



Fonte: Adaptado de DARMODARAN & PARKIN (2019).

Foi também demonstrado que as betacianinas podem ser convertidas a betaxantinas na presença de um aminoácido adequado em excesso. Os produtos da clivagem hidrolítica da betanina, BA e CDG, quando expostos ao aminoácido prolina em excesso, podem deslocar o equilíbrio para formar indicaxantina, uma das principais betaxantinas já elucidadas (DARMODARAN & PARKIN, 2019). Para o suco de pitaya vermelha, é improvável que tal reação seja relevante devido ao baixo teor de proteínas. Abreu *et al.* (2012) relataram um valor de $1,06 \pm 0,08$ g de proteína por 100 g para polpa da pitaya *H. polyrhizus*.

Quanto aos aspectos legais, a Joint FAO/WHO *Expert Committee on Food Additives* (JECFA) classificou o corante natural “vermelho beterraba”, representado majoritariamente pela betanina, de código INS 162, como um corante alimentício com ingestão diária máxima não especificada, à luz dos conhecimentos atuais. Isso significa não haver limite toxicológico de consumo para esse pigmento.

Dessa forma, de acordo com o Codex Alimentarius, as betalaínas podem ser utilizadas como aditivos corantes alimentícios desde que respeitadas as boas práticas de fabricação, isto é, a quantidade de betalaína aplicada deve ser a mínima para se obter efeito tecnológico desejado, assim como ter sido obtida, isolada ou preparada por meios que tornem esse composto seguro para o consumo. Em razão disso, a Instrução Normativa nº 211, de 1º de março de 2023, que estabelece as funções tecnológicas, condições e limites máximos para aditivos alimentares no Brasil, define o limite máximo de aplicação em alimentos para o “vermelho beterraba” (INS 162) como “*quantum satis*”.

3.2. Tratamento Térmico

O processamento térmico de alimentos, ou tratamento térmico, é uma operação unitária que envolve a transferência de calor, ou seja, energia térmica, a qual permite aumentar a vida útil dos alimentos. Tal conceito iniciou-se com Nicolas Appert, em 1805, que descobriu que através da fervura em banho-maria de alimentos envasados em vidros e lacrados com rolha e cera, era possível estender o prazo de validade destes produtos.

O processo desenvolvido por Nicolas Appert é similar ao que é utilizado nos dias de hoje para as conservas e enlatados, embora acreditava-se que o fator responsável pela preservação do alimento seria a ausência de ar dentro do frasco. Mais tarde, essa tese foi derrubada por Louis Pasteur, que percebeu que o vinho não azedava após fervê-lo e selá-lo em jarras com tampão de algodão, diferentemente do vinho não fervido. Pasteur foi o responsável por correlacionar os microrganismos, descobertos no século XVII, com a deterioração de alimentos e doenças nos seres humanos, portanto criando a fundamentação teórica do processamento térmico em alimentos (TADINI et. al, 2015).

A transferência de calor ao alimento gera um aumento na sua temperatura, sendo, portanto, um método físico cujo mecanismo de ação sobre os microrganismos está associado à desnaturação protéica, danos aos ácidos nucleicos e à membrana da célula com a consequente lise celular. O calor atua também desnaturando enzimas, que também são proteínas, fazendo assim com que estas percam suas atividades biológicas e, portanto, tornem-se incapazes de degradar compostos ou produzir toxinas e metabólitos no alimento (TORTORA, 2017).

Contudo, o calor transferido ao alimento durante o tratamento térmico também pode afetar negativamente aspectos sensoriais e nutricionais do mesmo, o que é indesejável em termos de qualidade do produto. Por esse motivo, é necessário otimizar o binômio tempo e temperatura a fim de garantir que seja entregue a letalidade adequada, destruindo os microrganismos e/ou inativando as enzimas indesejáveis no alimento e, simultaneamente, retendo o máximo possível de nutrientes e características sensoriais. O binômio de tempo e temperatura é normalmente definido com base nos dados de resistência térmica do microrganismo ou enzima alvo do tratamento térmico, levando em consideração também a manutenção e retenção dos atributos de qualidade sensorial e nutricional intrínsecos do alimento.

Ainda, importante ressaltar que o alimento tratado termicamente com fins de redução da carga microbiana ou inativação enzimática deve ser submetido a um resfriamento rápido imediatamente após período de retenção na temperatura do processo, evitando que haja cocção prolongada e consequentes perdas de qualidade.

Ao considerar os tratamentos térmicos a fim de aumentar a vida útil dos alimentos (desconsiderando aquecimento com finalidade de cozimento do produto), pode-se dividir os processos térmicos em alimentos em três tipos: branqueamento, pasteurização e esterilização.

O branqueamento é um tratamento brando que utiliza vapor d'água ou água quente para aquecer o alimento até temperaturas abaixo de 100°C por curto período de tempo, geralmente em torno de 5 minutos. Suas principais finalidades são a inativação enzimática a fim de evitar alterações de cor antes do processo de congelamento ou secagem de vegetais. Para frutas e hortaliças em conserva, tem como objetivo também a remoção de ar e gases dos tecidos vegetais, melhorando o vácuo pós envase. O branqueamento é aplicado nas etapas iniciais do processamento, de modo que as frutas e hortaliças são submetidas, posteriormente, a outros tipos de tratamentos térmicos com objetivo de redução de carga microbiana ou esterilização.

O tratamento térmico de pasteurização, assim batizado devido aos estudos de Louis Pasteur no século XIX, tem como principal objetivo a destruição dos microrganismos patogênicos e deteriorantes presentes no alimento. As temperaturas aplicadas nesse processo ficam abaixo de 100°C, o que permite a destruição somente de células vegetativas e desnaturação enzimática, não sendo eficaz contra esporos e bactérias mais termorresistentes. O tempo de processamento varia de alguns até vários minutos, contudo usualmente é preferível uma temperatura mais alta e tempos mais curtos a fim de reduzir a taxa de degradação de nutrientes (como vitaminas, compostos bioativos) e diminuir a intensidade de reações químicas não enzimáticas (para reter atributos sensoriais do produto).

Em função de ser um processo sob temperaturas brandas, a pasteurização não oferece esterilidade comercial ao produto, portanto o alimento pasteurizado tem vida útil dependente de sua a_w , pH e demais fatores intrínsecos do alimento, bem como de métodos de conservação complementares ao processamento térmico, como uso de embalagem hermética, embalagem à vácuo, estocagem sob refrigeração, aplicação de aditivos alimentares, salmouras com alto teor de sal, caldas com alto teor de sólidos solúveis e dentre outros.

Por fim, o tratamento térmico de esterilização é aquele em que o alimento é aquecido até temperaturas superiores a 100°C durante um período de tempo que pode ser curto ou longo, dependendo do tipo de processo. A esterilização na embalagem utiliza temperaturas de aproximadamente 121°C por 40 a 50 minutos. A esterilização UHT, que vem do inglês, *Ultra High Temperature*, utiliza temperaturas da ordem de 130 a 150°C e tempo curto de processo, em geral na faixa de segundos.

Na esterilização, objetiva-se destruir microrganismos esporulados e mais resistentes ao calor. Embora seja impossível eliminar a totalidade da carga microbiana, esse processo garante que os poucos esporos sobreviventes não tenham condições de se desenvolver ao longo da vida de prateleira do produto, o que torna o alimento seguro e estável. Para isso, é necessário um envase asséptico pós-tratamento. Em geral, se utiliza o *Clostridium botulinum* como microrganismo alvo do processo de esterilização, uma vez que ele possui alta resistência térmica e produz a toxina botulínica, que capaz de causar a doença neurológica do botulismo, o que pode levar o indivíduo à morte.

Os sucos ácidos (com pH inferior a 4,5) têm como principais fatores de deterioração as enzimas polifenoloxidase e peroxidase, comuns em diversas frutas, as quais catalisam reações de escurecimento que afetam a qualidade sensorial do produto (VALDERRAMA, MARANGONI, CLEMENTE, 2001). Outro fator crítico para a segurança do alimento é o *Clostridium botulinum*, o qual pode se multiplicar e produzir toxinas em alimentos com pH $\geq 4,6$, por esta razão, o pH de 4,5 é tomado como parâmetro para determinar o tipo de processamento térmico a ser aplicado em alimentos com alta atividade de água e que serão embalados na ausência de oxigênio, visto que estes dois fatores também favorecem seu crescimento (SCARCELLI & PIATTI, 2002). O suco de pitaya vermelha tem valores de pH que variam de 4,09 (Santana, 2019) até 4,45 (Autoria

própria, 2023). A pasteurização é, portanto, a escolha mais viável já que a acidez contribui para a conservação do suco, dispensando um tratamento térmico mais severo como a esterilização.

Ao longo do tempo, foram desenvolvidas diversas tecnologias inovadoras visando pasteurizar os alimentos, como as tecnologias de alta pressão hidrostática, campo elétrico pulsado, aquecimento ôhmico, micro-ondas e entre outras. Entretanto, a pasteurização tradicional, ou aquecimento convencional, segue sendo um dos métodos mais aplicados devido ao vasto conhecimento que se tem acerca da efetividade da desnaturação proteica de microrganismos e enzimas por meio do calor.

A seguir, estão elencados os princípios, vantagens e desvantagens do aquecimento convencional. Na sequência, a tecnologia de aquecimento ôhmico, uma tecnologia emergente alternativa à pasteurização tradicional que será abordada em detalhes.

3.2.1. Aquecimento Convencional

No aquecimento convencional, ou pasteurização tradicional, os alimentos são aquecidos exclusivamente por troca térmica indireta com um fluido de aquecimento, podendo ser água ou vapor d'água. As taxas de calor fornecidos ao produto são função da temperatura do meio de aquecimento e das propriedades térmicas do alimento aquecido, tais como condutividade térmica, calor específico e massa específica. A difusividade térmica de um alimento é função destes parâmetros, conforme a Equação 1.

$$\alpha = \frac{k}{\rho C_p} \quad (1)$$

α é a difusividade térmica do alimento ($\text{m}^2 \text{s}^{-1}$), onde k é a condutividade térmica ($\text{W m}^{-2} \text{K}^{-1}$), ρ é a massa específica ou densidade (kg m^{-3}) e C_p é a capacidade calorífica ($\text{J kg}^{-1} \text{K}^{-1}$), sendo a energia necessária para elevar a temperatura do alimento em 1°C ou 1K .

A transferência de calor ao alimento pode se dar pelos métodos de condução, convecção e radiação térmica, isoladamente ou combinados. O alimento, em função de suas propriedades térmicas, apresenta uma resistência à condução no seu interior, bem como o meio de aquecimento apresenta uma resistência à convecção. Apesar disso, é comum que a resistência à condução de calor no interior do alimento seja o fator mais limitante, fazendo com que ocorram gradientes de temperatura ao longo do volume do alimento, o que gera um aquecimento desuniforme do produto e perdas de vitaminas, nutrientes e alterações de aparência, textura, aroma e sabor (Ohlsson, 2002). As alternativas mais viáveis para minimizar tais alterações e perdas geralmente recaem em tempos de processo mais curtos e temperaturas mais altas, gerando menor tempo de exposição do produto. Portanto, o método convencional mais abordado é o HTST (do inglês, *High Temperature Short Time*).

Os alimentos possuem zonas com diferentes taxas de aquecimento, sendo que o centro geométrico de produtos uniformes e de geometria simétrica é usualmente o ponto de mais lento aquecimento, portanto o ponto que demora mais tempo para atingir a temperatura de processo. Este ponto pode variar em função da composição do alimento, uniformidade dos nutrientes e sua geometria (STUMBO, 1965). Por este motivo, o ponto de mais lento aquecimento, ou ponto mais frio do alimento, é tomado como referencial para verificar a eficácia e eficiência do tratamento térmico, dado que este é o local que vai levar maior tempo para atingir a temperatura de processo. Inclusive, a RDC nº 216, de 15 de setembro de 2004, estabelece que o tratamento térmico deve garantir que todas as partes do alimento atinjam a temperatura mínima de 70°C, portanto contemplando também o ponto mais frio do alimento.

A indústria de sucos de médio a grande porte faz uso de tecnologias avançadas para tratar termicamente a bebida industrializada, utilizando equipamentos como o trocador de calor de placas ou trocador de calor tubular. A vantagem do uso desses equipamentos é que eles viabilizam processos contínuos, o que permite controle automatizado e redução custos (já que a produtividade é aumentada e viabiliza poucas paradas), além de permitirem a higienização *Cleaning In Place* (CIP) sem necessidade de desmontar ou abrir o equipamento para limpeza e desinfecção, desde que respeitados os princípios do *design* higiênico para o projeto destes equipamentos.

A aplicação da pasteurização em batelada ainda é muito utilizada em indústrias de menor porte quando não há volume suficiente que justifique economicamente a aquisição de um equipamento que opere em modo contínuo. Os testes em escala de bancada de laboratório também fazem uso do processo em batelada, na maioria dos casos.

3.2.2. Aquecimento Ôhmico

O aquecimento ôhmico, também conhecido por aquecimento joule, é uma tecnologia térmica emergente cujo princípio se baseia na passagem de uma corrente elétrica alternada através do alimento a ser tratado de modo a gerar calor volumetricamente no produto. Embora seja considerada uma tecnologia emergente, o aquecimento ôhmico já existe desde o século XV e, especialmente fora do Brasil, já são aplicados processos contínuos em escala industrial, com configuração dos eletrodos colinear ou transversal.

O método consiste no princípio da Lei de Ohm, postulada pelo físico alemão Georg Simon Ohm no século XIX, a qual diz que a razão entre a diferença de potencial elétrico aplicada, ou tensão, e a corrente elétrica que passa entre dois pontos é igual à resistência elétrica, conforme a Equação 2 abaixo.

$$R = \frac{V}{I} \quad (2)$$

R é a resistência elétrica (Ω), onde V é a tensão ou diferença de potencial elétrico (V) e I é a corrente elétrica (A).

A técnica do aquecimento ôhmico consiste em conectar eletrodos entre dois pontos do alimento que se deseja aquecer e então aplicar a diferença de potencial elétrico desejada. Em poucos instantes, o alimento começará a ser aquecido de forma volumétrica devido à movimentação de cargas iônicas internas presentes no produto, as quais geram atrito e dissipam a energia elétrica que atravessa o alimento em energia térmica, tal qual ocorre na resistência de um chuveiro elétrico (Ruan *et al.*, 2001), exceto que neste caso, o próprio alimento atua como resistência à passagem de corrente.

A condutividade elétrica dos alimentos é um fator muito importante para aplicação desse método. Da física, a relação entre a condutividade elétrica e a resistência elétrica é inversamente proporcional (HALLIDAY, 2016), o que pode ser demonstrado combinando a Equação 2 e a Equação 3 abaixo. Rearranjando, chega-se na Equação 4, a seguir.

$$\sigma = \frac{L I}{V A} \quad (3)$$

$$R = \frac{L}{\sigma A} \quad (4)$$

R é a resistência elétrica (Ω), onde σ a condutividade elétrica (S/m), V é a tensão aplicada (V), L é a distância entre os eletrodos (m) e A é a área de seção transversal do corpo em contato com os eletrodos (m^2).

A Equação 5 descreve o Efeito Joule, ou aquecimento joule, fenômeno que ocorre devido à dissipação de energia elétrica em energia térmica, o qual rege a taxa de aquecimento do tratamento ôhmico em alimentos.

$$Pot = V I = \frac{V^2}{R} = R I^2 \quad (5)$$

Pot é o calor ou energia dissipada por unidade de tempo no alimento (W), onde V é a tensão aplicada (V), I é a corrente elétrica (A) e R é resistência elétrica (Ω). As

igualdades demonstram diferentes apresentações da equação 5 para o cálculo da energia dissipada, as quais produzem mesmo resultado.

Observa-se que quanto maior a condutividade elétrica, menor a resistência elétrica portanto menor a taxa de dissipação de energia no alimento, e, por consequência, mais lentamente ele irá aquecer. Por outro lado, se a condutividade elétrica for baixa, a dissipação de energia elétrica em energia térmica será alta, de modo que o produto sobreaquecerá rapidamente (HALLIDAY, 2016).

É importante notar que, diferente do aquecimento convencional, no aquecimento ôhmico têm-se uma geração de calor volumétrica, uma vez que os locais de geração de calor estão ligados às posições dos íons no produto; tendo em vista que alimentos possuem composição complexa devido à não uniforme distribuição de seus nutrientes, na maioria das vezes é difícil prever o perfil de temperatura durante o aquecimento de alimentos tratados ohmicamente, em especial, os produtos sólidos. Alimentos fluidos e particulados de baixa viscosidade permitem maior controle devido à fácil movimentação iônica no seu interior, como é o caso de sucos (Fryer *et al.*, 1993). Sendo assim, em alimentos adequados, as altas taxas de calor gerado de forma volumétrica permite driblar o inconveniente da penetração de calor imposto pelo método convencional de condução, já que o aquecimento ôhmico evita formação de gradientes de temperatura e proporciona um aquecimento mais uniforme em comparação ao tratamento térmico convencional.

No processo ôhmico em batelada, o calor já previamente gerado será distribuído seguindo a Lei de Fourier da transferência de calor, mas enquanto o campo elétrico estiver sendo aplicado, a geração de calor não cessará, de modo que o perfil de temperaturas torna-se uma rampa infinita (em caso de pressurização), diferente do aquecimento convencional que depende da temperatura do meio de aquecimento para atingir um *plateau* e estabilizar na temperatura de retenção durante o *holding time*, ou tempo de processo. Por conta desse inconveniente, é necessário adotar estratégias para frear o aquecimento e estabilizar a temperatura no patamar fixo do processo a ser adotado.

Algumas das vantagens do tratamento ôhmico são a velocidade de aquecimento, uma vez que a geração de calor independe das propriedades térmicas, as quais usualmente são baixas nos alimentos. Deste modo, a rampa de aquecimento até a

temperatura de processo é reduzida, o que gera economia de energia e tempo. Como já foi mencionado, se percebe que temperaturas mais altas por menores tempos são tratamentos menos danosos aos atributos de qualidade do alimento, como compostos bioativos, vitaminas e outros termolábeis; portanto o rápido aquecimento desta tecnologia é favorável à retenção destes itens. Além disso, as altas taxas de calor providas aos alimentos neste método permitem iniciar e parar o aquecimento quase instantaneamente, o que evita zonas de sobreaquecimento (MERCALI, 2013).

Resumidamente, o sucesso da aplicação do aquecimento ôhmico depende da formulação do alimento, em especial sua condutividade elétrica, bem como o *design* e desenho do sistema, já que o campo elétrico depende da distância entre os eletrodos e configuração do sistema (Sarkis *et al.*, 2013).

De modo geral, considera-se o efeito térmico do aquecimento ôhmico sobre os microrganismos como principal responsável pela destruição dos mesmos, entretanto a passagem de corrente elétrica também pode induzir outro mecanismo chamado eletroporação. A eletroporação foi evidenciada através de experimentos em que se igualaram os perfis de temperatura do tratamento ôhmico e do tratamento convencional para se obter um mesmo efeito térmico em ambos os processos. Os resultados demonstraram que os microrganismos apresentam, de forma geral, uma queda maior de unidades formadoras de colônia por grama de alimento, o que se deve ao fenômeno chamado eletroporação. A eletroporação consiste na formação de poros nas membranas das células devido à alta diferença do potencial transmembrana, gerando lise celular e extravasamento do conteúdo intracelular dos microrganismos (SOMAVAT, 2013).

Existem alguns estudos abordando efeitos elétricos sobre vitaminas, como o ácido ascórbico ou vitamina C, na polpa de acerola tratada pelo aquecimento ôhmico. Mercali (2014) verificou uma taxa de degradação significativamente maior na frequência de 10 Hz quando comparado à degradação do ácido ascórbico sobre frequência acima de 100 Hz em mesma tensão aplicada. Tal efeito pode estar relacionado à corrosão dos eletrodos e reações eletroquímicas no meio, sendo uma das desvantagens do aquecimento ôhmico.

Alkanan *et al.* (2021) conduziram uma revisão sobre os principais estudos de 2013 a 2020 envolvendo a tecnologia de aquecimento ôhmico e seu efeito sobre diversos

componentes, dentre eles, os compostos bioativos. Hardinasinta *et al.* (2022) verificaram que tais estudos envolvendo efeitos não térmicos do aquecimento ôhmico sobre diferentes alimentos são divergentes quanto à estabilidade de antocianinas e compostos fenólicos, dado que alguns autores apresentaram resultado de maior degradação no aquecimento ôhmico em comparação ao convencional, enquanto outros obtiveram menor degradação ou similar ao aquecimento convencional.

Até o presente momento, não existem muitos estudos abordando a estabilidade das betalaínas frente ao aquecimento ôhmico, enquanto poucos investigaram a estabilidade de antocianinas e outros compostos bioativos.

Longaray (2014) abordou a degradação das betalaínas presentes em suco de beterraba e verificou valores de tempo de redução decimal, *valores-D*, similares entre os aquecimentos ôhmico e convencional para as betacianinas, entretanto as betaxantinas apresentaram maior degradação no aquecimento ôhmico em comparação ao convencional. O estudo utilizou as temperaturas de 75 e 85°C com mesma tensão aplicada de 25 V.

Schmitz (2014) estudou o efeito não térmico do aquecimento ôhmico sobre a degradação de antocianinas na polpa de jabuticaba e também verificou *valores-D* similares entre ambos métodos convencional e ôhmico. Este estudo trabalhou com as temperaturas de 60, 70, 80 e 90°C com diferença de potencial elétrico fixa em 30 V.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

Esse capítulo apresenta os materiais e metodologias utilizados para conduzir os experimentos que avaliaram a estabilidade das betalaínas do suco de pitaya vermelha durante os aquecimentos ôhmico e convencional. Todos os experimentos foram realizados no Laboratório de Química e Processamento de Alimentos, localizado no Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos (ICTA) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

4.1. Suco de Pitaya

As pitayas utilizadas para execução deste trabalho são provenientes da safra de 2022, cultivada no Rio Grande do Sul, obtidas da empresa Pitaya do Brasil (Novo Hamburgo / RS, Brasil).

Inicialmente, as pitayas vermelhas foram despulpadas de forma manual e congeladas a -20°C por método de congelamento lento, em virtude de os cristais de gelo formados favorecerem a separação e extração de suco da polpa. A polpa foi então descongelada em geladeira durante cerca de 24 horas, e o suco separado da mesma através de centrifugação (10.000 g por 15 minutos a 5°C , Centrífuga Hitachi, CR 21GIII, Japão).

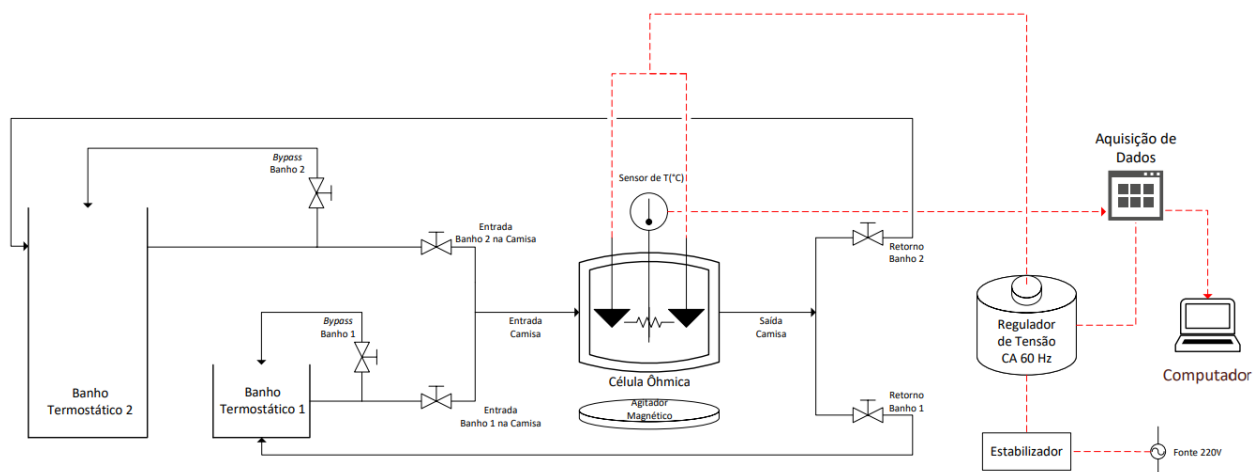
O suco foi então homogeneizado e fracionado em amostras de aproximadamente 155 mL por saco. As amostras foram submetidas a ultracongelamento até -75°C e, posteriormente, armazenadas a -20°C até a realização dos experimentos.

A condutividade elétrica do suco de pitaya vermelha extraído foi de 4,0 mS/cm, medida por meio de condutímetro (Armfield, modelo PCT-40). O pH do suco foi de 4,45, obtido através de pH-metro (Bel Engineering, modelo PHS3BW).

4.2. Tratamento Térmico via Aquecimento Ôhmico

O esquema e uma fotografia do sistema de aquecimento ôhmico utilizado para realização dos experimentos são apresentados nas Figuras 8 e 9, respectivamente. O aparato consiste em um sistema para fornecimento de energia, um sistema de aquisição de dados, banhos de aquecimento e resfriamento, um agitador magnético, um computador e uma célula ôhmica.

Figura 8 – Sistema de aquecimento ôhmico esquematizado.



Fonte: Autoria própria (2023).

Figura 9 – Sistema de aquecimento ôhmico utilizado no ICTA / UFRGS.



Fonte: A autoria própria (2023).

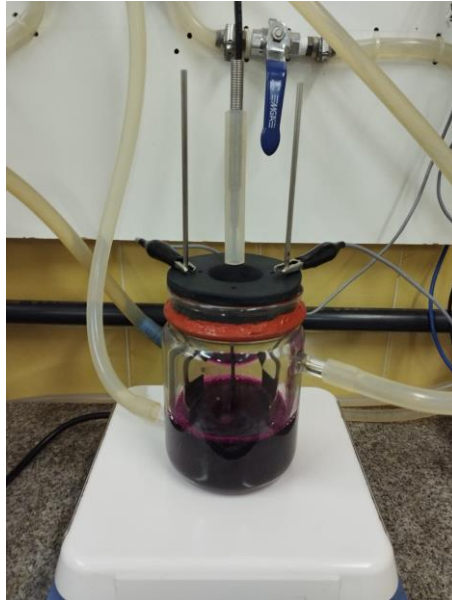
A célula ôhmica consiste de um recipiente de vidro de 250 mL encamisado, o qual permite a passagem de água de resfriamento ou aquecimento. Os eletrodos de titânio (3,4 cm de altura) são curvados, com distância máxima entre os eletrodos de 3,7 cm e a mínima de 2,8 cm. A temperatura foi medida por meio de sensor do tipo PT-100, localizado próximo a um dos eletrodos. A tampa da célula de borracha conta com furo central para permitir a coleta de alíquotas da amostra ao longo da aplicação do experimento cinético de tratamento térmico.

Os banhos termostáticos 1 (Lauda, modelo Alpha A6, Alemanha) e 2 (Lauda, modelo Alpha RA8, Alemanha) são utilizados para aquecimento e resfriamento da amostra através da passagem de água pela camisa da célula ôhmica. As válvulas de *bypass* do banho 1 e do banho 2, ilustradas no esquema anterior, são abertas somente quando o respectivo banho não está circulando pela camisa.

Os eletrodos são conectados ao regulador de tensão (VARIAC JNG, modelo TDGC2-2KVA - Monofásico 8A 250V, China) por meio de conectores elétricos de garra

tipo “jacaré”. A Figura 10 mostra a célula ôhmica conectada aos jacarés para fornecimento de uma diferença de potencial à amostra.

Figura 10 – Imagem do sistema acoplado à célula ôhmica.



Fonte: Autoria própria (2023).

Os experimentos cinéticos foram conduzidos com as amostras do suco de pitaya para as temperaturas de 70, 80 e 90°C utilizando uma tensão de 75 V. Amostras foram coletadas em 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 45 e 60 minutos. As alíquotas, após coletadas, foram rapidamente resfriadas em banho de água com gelo.

Por se tratar de um experimento de cinética, o tempo “0” se refere ao momento em que o suco atinge a temperatura de estudo, na qual ele é mantido durante todo o experimento.

Para fins de comparação, foi necessário igualar os perfis de temperatura do aquecimento ôhmico com o do aquecimento convencional. Este procedimento permite eliminar o efeito do calor e avaliar os efeitos não-térmicos devido à eletricidade aplicada ao suco durante o aquecimento ôhmico. Para tanto, utilizou-se o mesmo painel de mangueiras esquematizado nas Figuras 8 e 9, adotando-se a seguinte estratégia: o banho 1, à 97°C, aquece a amostra através da camisa até que esta atinja 5°C a menos do que a temperatura de estudo desejada para o tratamento. Neste instante, a passagem

do banho 1 é cessada e inicia-se a circulação do banho 2 pela camisa, cuja temperatura varia de acordo com a necessidade de remoção de calor gerado a fim de manter o suco na temperatura constante de cada tratamento. Por fim, aplica-se a tensão de 75 V logo após a inversão dos banhos. Após esse procedimento, a temperatura do suco deve ficar constante ao longo do experimento, requerendo apenas ajustes finos na temperatura do banho termostático 2.

No início de todo experimento, o banho 1 inicia com temperatura de 97°C a fim de que se obtenha mesma rampa de aquecimento (*come up time*) para todos os tratamentos, e além disso, a temperatura é bastante elevada para acelerar ao máximo esta etapa e evitar degradação excessiva ao longo da rampa.

Após a coleta das alíquotas e resfriamento rápido em banho com gelo, as mesmas foram congeladas em tubos falcon a -20°C para posterior análise do conteúdo de betalaínas. Tal estratégia foi adotada devido à capacidade de regeneração dos compostos de degradação das betalaínas identificadas para o suco de beterraba. As alíquotas foram analisadas quanto ao teor de betalaínas através de cromatografia líquida de alta eficiência e espectroscopia do ultravioleta visível, além de cor através de colorímetro.

4.3. Tratamento Térmico via Aquecimento Convencional

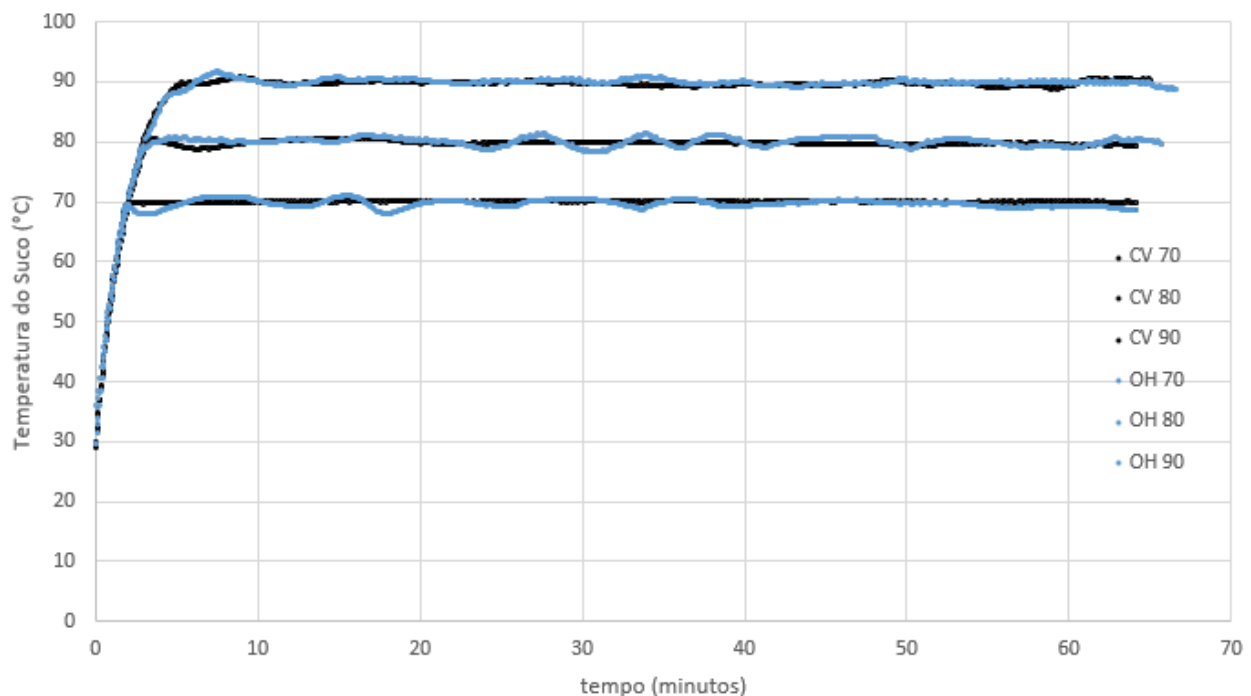
Para realizar o aquecimento convencional, utilizou-se o mesmo aparato experimental descrito no item 4.2, exceto que o controlador de tensão permaneceu desconectado dos eletrodos ao longo do experimento, já que no aquecimento convencional não houve aplicação de tensão. Os eletrodos foram mantidos, embora desconectados, a fim de manter a mesma geometria do experimento em ambos os tratamentos. Os experimentos foram conduzidos nas mesmas temperaturas e tempos utilizados no tratamento via aquecimento ôhmico.

Para igualar o perfil de temperaturas com o perfil do aquecimento ôhmico, também foi feito o uso do painel de mangueiras supracitado anteriormente, porém da seguinte maneira: utilizou-se a circulação do banho 1 pela camisa, novamente à 97°C para todos experimentos, até próximo da temperatura de retenção do experimento e inverteu-se

pelo banho 2, previamente estável a cerca de 2°C acima da temperatura de retenção desejada, de modo a considerar as perdas de carga ao longo das mangueiras e válvulas. Com os mesmos perfis de temperatura, qualquer diferença nos resultados pode ser associada ao efeito elétrico do aquecimento ôhmico, uma vez que ambos tratamentos apresentam efeito térmico semelhante.

A Figura 11 mostra o perfil de temperatura do suco de pitaya vermelha durante os experimentos de aquecimento convencional (CV) em preto e aquecimento ôhmico (OH) em cinza. A temperatura do suco foi mantida na temperatura de estudo com uma variação de $\pm 2^\circ\text{C}$.

Figura 11 – Perfil de temperatura do suco sob aquecimento ôhmico e convencional.



Fonte: Autoria própria (2023).

Cada uma das três temperaturas de retenção (70, 80 e 90°C) de cada tratamento (convencional e ôhmico) foi realizada em triplicata, totalizando 18 experimentos. Os experimentos do aquecimento convencional e suas alíquotas coletadas foram codificados como CV, do inglês, "**Con**Ventional"; os experimentos de aquecimento ôhmico foram codificados como OH, do inglês, "**Ohmic Heating**".

4.4. Análises

A seguir encontram-se a descrição das análises realizadas nas alíquotas coletadas e os equipamentos utilizados para tanto.

4.4.1. Determinação de Betacianinas por Espectroscopia do Ultravioleta Visível

As alíquotas de suco tratado de cada experimento foram diluídas em 150 vezes, dispostas em cubeta com caminho óptico de 1,0 cm e lida a absorvância em espectrofotômetro (Biospectro, SP-220) em comprimento de onda de 538 nm.

O cálculo para determinar a retenção das betacianinas foi de acordo com a Equação 6.

$$\text{Betacianinas (mg/mL de suco)} = \frac{Abs \times M \times FD}{\varepsilon \times L} \quad (6)$$

Abs é a absorvância lida no espectrofotômetro a 538 nm, *M* é a massa molar da betanina (550 g mol⁻¹), *FD* é o fator de diluição (150 = 166,6 µL diluídos em 25 mL ou 25000 µL), *ε* é o coeficiente de extinção molar da betanina (6500 L mol⁻¹ cm⁻¹), e *L* é comprimento do caminho óptico da cubeta (1,0 cm).

Ressalta-se que o espectrofotômetro não permite distinguir entre betanina e isobetanina, dado que ambas possuem mesma massa molar e mesmo coeficiente de extinção molar.

4.4.2. Determinação de Betalaínas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

A quantificação das betalaínas das amostras foi realizada por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC, do inglês, High Performance Liquid Chromatography), utilizando uma curva-padrão da betanina, segundo metodologia descrita por Stintzing *et al.* (2002). Utilizou-se da mesma diluição de 150 vezes das alíquotas lidas em espectrofotômetro para injeção em HPLC.

Os compostos foram analisados em um HPLC Shimadzu (Kyoto, Japan) acoplado a duas bombas (LC-20AD), um desgaseificador (DGU-20A), um injetor automático (SIL20AHT), um forno (CTO-20A) conectado em série a um detector DAD (SPD-M20A)

e um espectrômetro de massas (MS) com analisador Quadrupolo-Time-of-Flight (QTOF) e uma fonte de ionização por eletrospray (ESI) (Bruker Daltonics, micrOTOF-Q III model, Bremen, Germany).

As amostras (5 μ L) foram injetadas em uma coluna de fase reversa Phenomenex C₁₈ (250 mm \times 4.6 mm) com tamanho de partícula de 4 μ m. A fase móvel A consistiu de água acidificada com 0,1% de ácido fórmico, e a fase móvel B de acetonitrila acidificada com 0,1% de ácido fórmico. As amostras foram eluídas de acordo com o seguinte gradiente binário: 5 % B como condição inicial, 50 % B de 1 min a 46 min, 99% B de 48 a 51 min e 5% B de 52 min a 55 min. A taxa de fluxo foi de 0,5 mL min⁻¹. A fonte ESI foi operada no modo positivo, em tensão capilar de 3000 V, faixa de varredura m/z de 50 a 1000, temperatura e fluxo de gás (N₂) de 310°C e 8 L.min⁻¹, pressão de gás nebulizador de 4 bar. Os espectros MS² foram adquiridos no modo Auto-MS² e a solução de formato de sódio (10mM) foi usada como um calibrante externo.

4.4.3. Determinação de Cor

As amostras foram analisadas pelo colorímetro Minolta CR-300 (Konica Minolta, Japão), onde foram obtidos os parâmetros L^* , a^* e b^* . O parâmetro L^* representa a luminosidade da amostra. Quanto mais próximo de 0, mais escura; quanto mais próximo de 100, mais clara. O parâmetro a^* (-60 até +60) indica a relação entre vermelho (mais próximo de +60) e verde (mais próximo de -60). O parâmetro b^* (-60 até +60) indica a relação entre amarelo (mais próximo de +60) e azul (mais próximo de -60). Foram calculadas as diferenças de cor, através da equação 7.

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (7)$$

$\Delta L^* = (L^* - L^*_i)$, $\Delta a^* = (a^* - a^*_i)$, $\Delta b^* = (b^* - b^*_i)$, onde o subíndice “i” representa o valor do parâmetro no suco *in natura*, previamente ao tratamento térmico, e os parâmetros L^* , a^* e b^* são as coordenadas do colorímetro para cada tempo de coleta dos diferentes tratamentos.

O ângulo de tonalidade (*HUE*) e o grau de saturação cromática (*C**), foram calculados utilizando as equações 8 e 9, respectivamente.

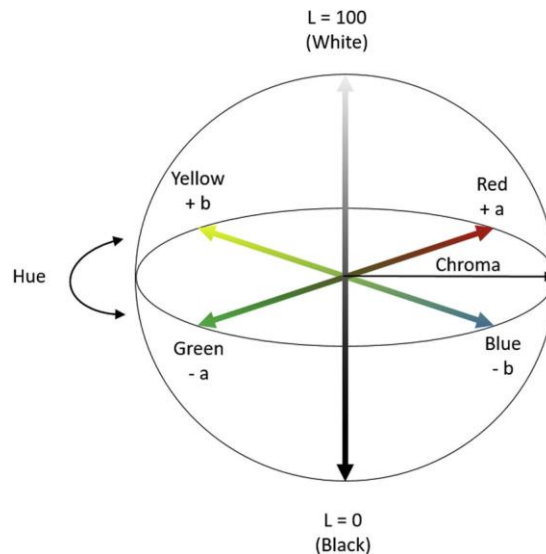
$$HUE = \arctg \left(\frac{b^*}{a^*} \right) \quad (8)$$

$$C^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad (9)$$

O ângulo de tonalidade (*HUE*) permite identificar em qual quadrante se encontra a cor, sendo uma coordenada radial do globo, enquanto o cromatismo (*C**) é a distância radial do ponto até o centro do globo, também uma coordenada radial.

A Figura 12 demonstra as coordenadas no diagrama de espaço tridimensional das cores CIELAB, estabelecido pela Comissão Internacional de Iluminação.

Figura 12 – Espaço tridimensional das cores CIELAB.



Fonte: Comissão Internacional de Iluminação.

4.4.4. Análise Estatística

A análise estatística foi realizada através de Análise de Variância (ANOVA) com comparação múltipla entre médias através do Teste de Tukey, a 5% de significância.

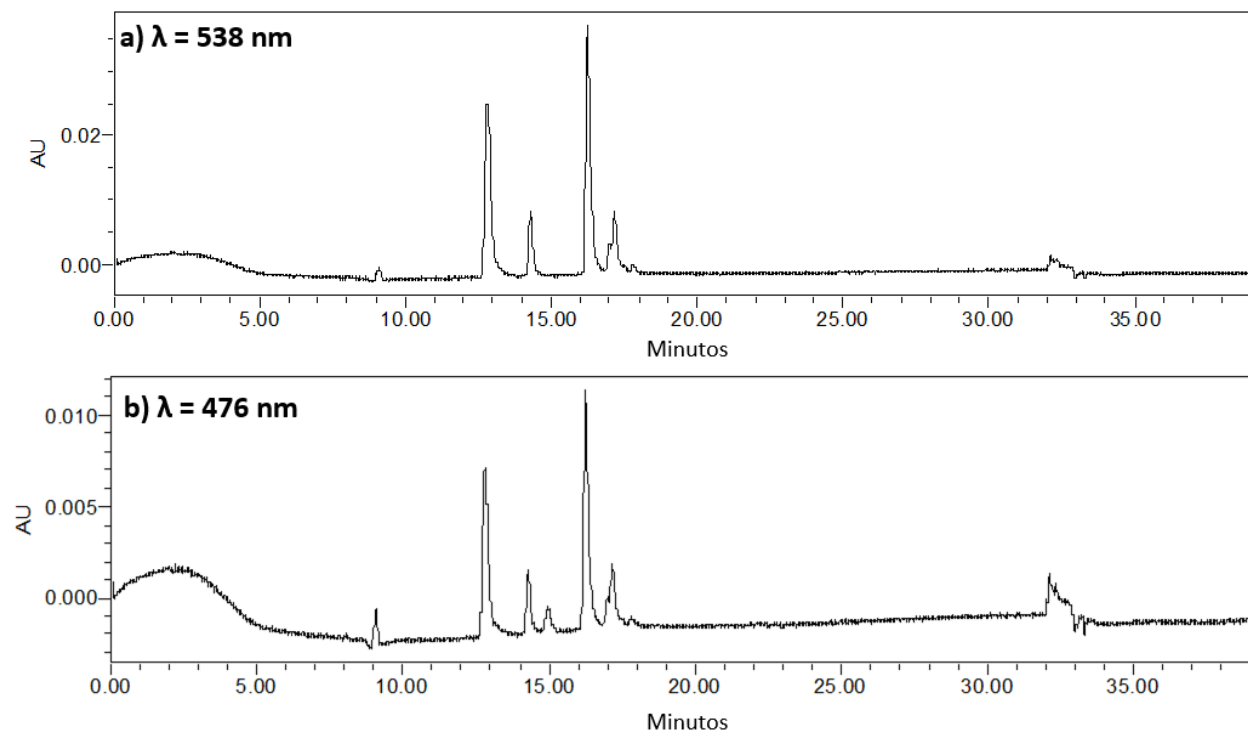
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesse capítulo são abordados os resultados do estudo de comportamento cinético das betalaínas presentes em suco de pitaya tratado via aquecimento ôhmico e aquecimento convencional.

5.1. Análise de Betalaínas via HPLC

As análises realizadas via cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) incluíram as amostras coletadas do suco *in natura*, bem como os demais tempos de coleta dos experimentos cinéticos para identificação dos picos característicos. A Figura 13 mostra o cromatograma do suco de pitaya vermelha *in natura* nos comprimentos de onda de 538 nm, para as betacianinas; e 476 nm, para as betaxantinas.

Figura 13 – Cromatograma do suco de pitaya vermelha (*Hylocereus polyrhizus*) nos comprimentos de onda de (a) 538 nm e (b) 476 nm.



Fonte: Autoria própria (2023).

Devido à coloração da polpa da pitaya vermelha e os estudos presentes na literatura, as betacianinas, de coloração vermelho a violeta, estão em maior proporção no suco quando comparadas com as betaxantinas, que possuem coloração de amarelo a laranja. Nota-se que o cromatograma da Figura 13a apresentou altura de pico superior para as betacianinas, em relação ao cromatograma da Figura 13b, para as betaxantinas.

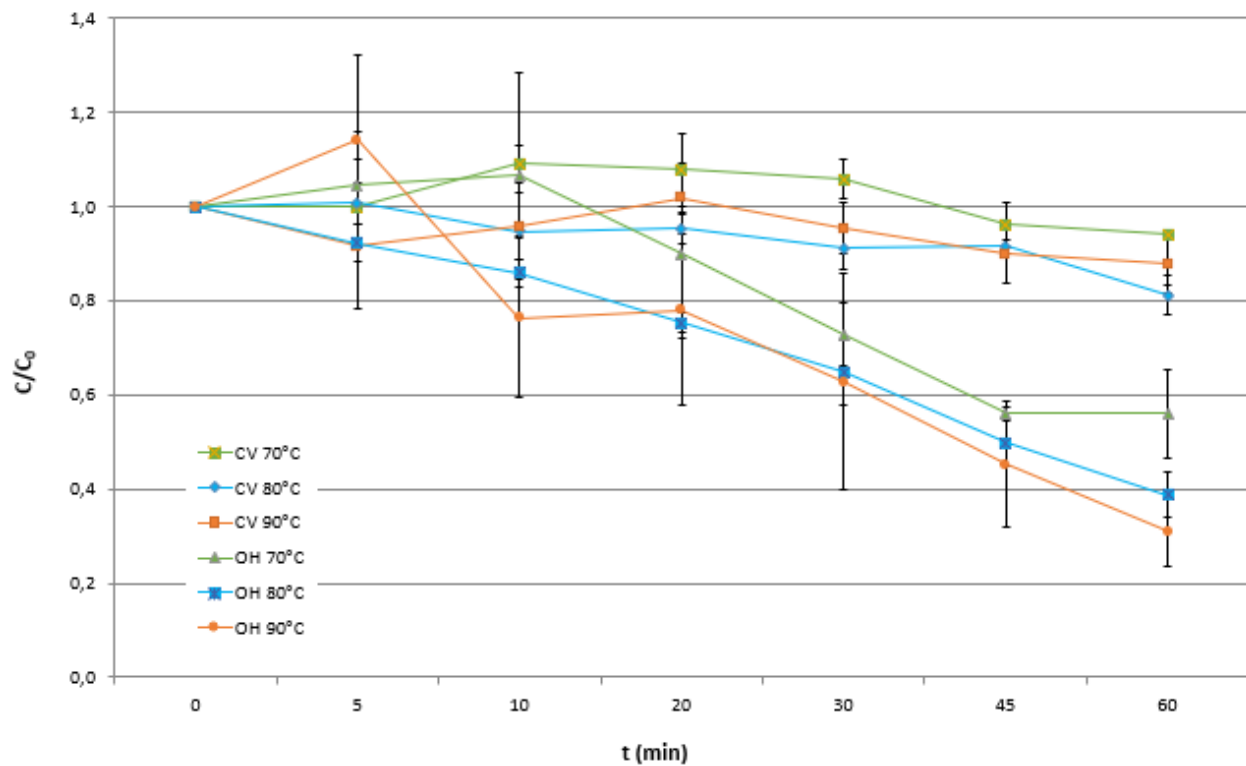
A partir deste resultado, objetivou-se avaliar a estabilidade exclusiva das betacianinas dada sua maior concentração no suco.

Dois picos principais puderam ser verificados em comparação ao padrão de betanina: primeiro pico refere-se à própria betanina, aparecendo em uma retenção próxima a 12 min; o segundo pico refere-se à isobetanina, numa retenção de aproximadamente 16 min. A concentração de betalaínas foi obtida somando a área de ambos os picos e utilizando curva padrão previamente obtidas por Utpott (2019) em mesmo equipamento e coluna. A betanina apresentou uma concentração de $335,9 \pm 29,9$ mg L⁻¹, enquanto seu isômero, isobetanina, apresentou concentração de $446,5 \pm 4,4$ mg L⁻¹, ambas para o suco *in natura*.

5.2. Cinética de degradação de betalaínas durante aquecimento ôhmico e aquecimento convencional

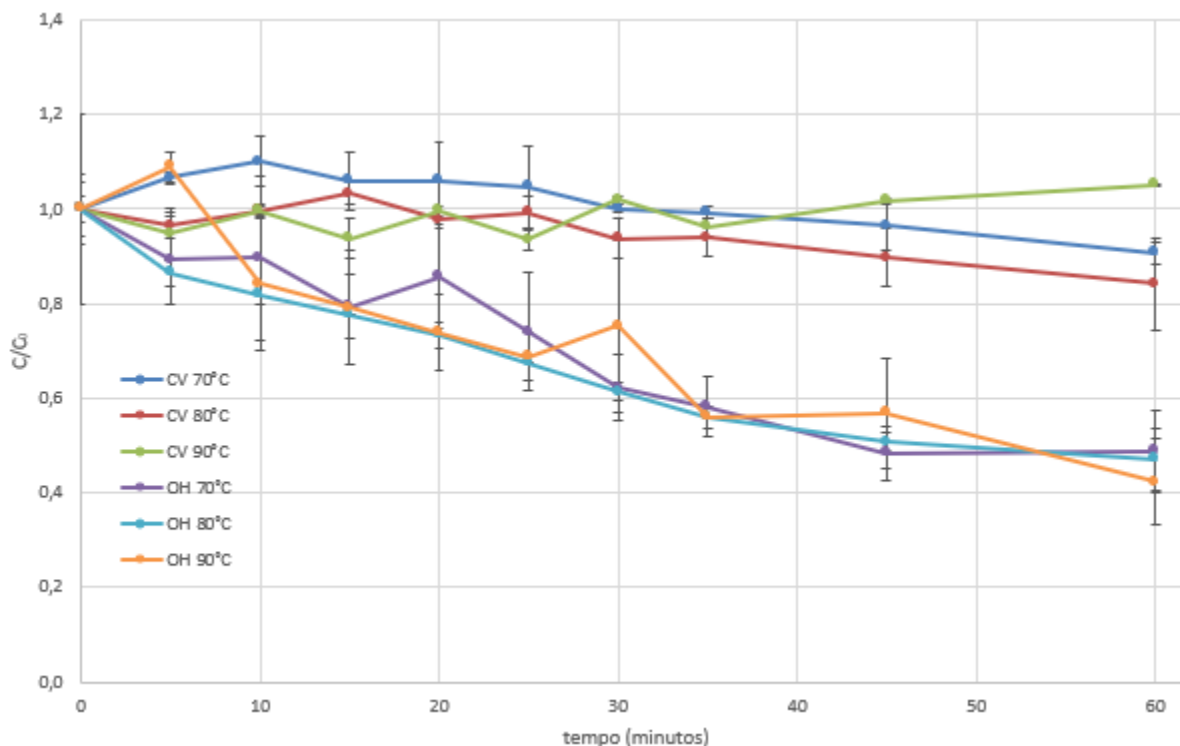
A cinética de degradação das betacianinas, obtida pela análise em HPLC e pela análise espectrofotométrica no UV-Visível, é apresentada nas Figuras 14 e 15, respectivamente. Nessas figuras, a concentração de betacianinas está normalizada pela concentração no tempo zero C/C_0 (tempo na qual atinge-se a temperatura de estudo). Em razão dos experimentos terem por objetivo a determinação do comportamento cinético de degradação das betalaínas, foram utilizados tempos de até 60 minutos de processo nas temperaturas de estudo de 70, 80 e 90°C. Os resultados analisados por meio de espectrofotômetro apresentam três pontos intermediários adicionais: 15, 25 e 35 minutos.

Figura 14 – Relação de concentração das betacianinas com o tempo para diferentes temperaturas e tratamentos (via HPLC).



Fonte: Autoria própria (2023).

Figura 15 – Relação de concentração das betacianinas com o tempo para diferentes temperaturas e tratamentos (via espectrofotômetro).



Fonte: Autoria própria (2023).

Os resultados obtidos via HPLC e análise espectrofotométrica foram correlacionados através da correlação de Pearson, conforme demonstrado na Tabela 2. Verifica-se que o comportamento da cinética de degradação de betacianinas segue a mesma tendência em ambos os métodos de análise com uma alta correlação (altos valores de R^2), exceto para o experimento CV 90°C que apresentou uma correlação negativa e baixa. Esse resultado pode ser explicado pelo aumento na concentração de betalaínas ao final do tratamento observado nos dados obtidos pelo espectrofotômetro e não observado nos dados obtidos por HPLC. A técnica espectrofotométrica não é específica, pois mede todas as substâncias que absorvem luz em um determinado comprimento de onda. É possível que tal técnica tenha quantificado compostos formados a partir do aquecimento que não foram quantificados pelo HPLC, a qual é uma técnica mais seletiva.

Tabela 2 – Correlação de Pearson para valores de concentração de betalaínas obtidos por análise via HPLC e espectrofotômetro na região do visível.

Tratamento	Correlação de Pearson (R²)
CV - 70°C	0,8103
CV - 80°C	0,8730
CV - 90°C	-0,2886
OH - 70°C	0,9626
OH - 80°C	0,9857
OH - 90°C	0,9818

Fonte: Autoria própria (2023).

Outro comportamento bastante perceptível foi o aumento da concentração de betacianinas nos tratamentos convencionais, em especial nos primeiros pontos, o que ocorreu em ambos os métodos de análise. Tal resultado indica uma possível liberação das betalaínas previamente ligadas a outros compostos, como açúcares ou polissacarídeos mais complexos do suco de pitaya. Assim, observa-se que após a ação do calor, as betacianinas tornaram-se mais biodisponíveis para quantificação.

De forma geral, pode-se inferir que a análise por espectrofotômetro é adequada para determinação das betacianinas no suco de pitaya vermelha, entretanto não permite a diferenciação dos isômeros betanina e isobetanina. Dessa forma, a discussão doravante irá utilizar os dados obtidos por HPLC.

Através da análise da Figura 14, é possível observar que os tratamentos convencionais (CV), para as três temperaturas de estudo, não apresentaram grande níveis de degradação. A 70°C, as betacianinas mostraram-se estáveis ao longo de todo o tratamento. Por outro lado, as betacianinas foram visivelmente degradadas em todas as temperaturas testadas no tratamento ôhmico (OH). Como os experimentos convencionais não apresentaram taxas de degradação elevadas, não foi possível modelar a curva cinética e obter os parâmetros de reação de primeira ordem (valores da constante cinética k da reação). Assim, não foi possível realizar uma comparação dos parâmetros cinéticos entre ambos tratamentos, convencional e ôhmico.

Uma análise de variância (ANOVA) foi realizada para dois pontos da curva cinética (30 e 60 minutos) para comparar as duas tecnologias estudadas. Os resultados são apresentados na Tabela 3. Observa-se que para o tempo de 30 minutos, os experimentos do aquecimento convencional não diferiram entre si nas três temperaturas avaliadas, porém diferiram significativamente dos tratamentos via aquecimento ôhmico. A retenção das betacianinas foi maior para o aquecimento convencional em comparação ao ôhmico em todas as temperaturas avaliadas.

Tabela 3 – Retenção das betalaínas (%) obtidas por HPLC para os diferentes tratamentos nos tempos de 30 e 60 minutos.

t (min)	CV 70°C	OH 70°C	CV 80°C	OH 80°C	CV 90°C	OH 90°C
30	105,7 ± 4,2 ^a	73,0 ± 6,7 ^b	91,4 ± 4,6 ^a	64,8 ± 6,8 ^b	95,5 ± 0,30 ^a	62,7 ± 28,7 ^b
60	94,2 ± 10,9 ^a	56,1 ± 9,4 ^c	81,3 ± 4,2 ^b	38,8 ± 4,8 ^d	87,9 ± 0,7 ^{ab}	31,2 ± 4,9 ^d

Valores apresentados em termos de média ± desvio padrão das triplicatas de C/C₀ multiplicados por 100%. Linhas com letras iguais indicam que não houve diferença significativa entre os tratamentos a 5% de significância. Fonte: Autoria própria (2023).

No tempo de 60 minutos, as maiores retenções também ocorrem nos tratamentos convencionais, embora tenha havido diferença significativa entre as temperaturas. A temperatura mais branda, de 70°C no aquecimento convencional, apresentou maior retenção de betacianinas. Todos os tratamentos convencionais foram significativamente mais eficazes em reter as betacianinas quando comparados aos tratamentos ôhmicos. Dentre os tratamentos via aquecimento ôhmico, o tratamento OH 70°C apresentou maior retenção, diferindo estatisticamente dos tratamentos OH 80°C e OH 90°C, os quais apresentaram mesma retenção ao final do tratamento.

Huang & Von Elbe (1985) verificaram a regeneração da betanina tratada termicamente após armazenamento do suco de beterraba em refrigeração; além disso, tal reação é maximizada quando o pH está entre 4,0 e 5,0, o que pode também ter ocorrido com as amostras do suco de pitaya coletadas ao longo do experimento cinético, dado que todas as alíquotas foram imediatamente resfriadas em banho com gelo e submetidas ao congelamento precedendo às análises realizadas. O pH do suco de pitaya medido foi de 4,45, portanto dentro da faixa de maior estabilidade das betalaínas, de acordo com os autores. Diante dessa constatação, pode-se inferir que o aquecimento ôhmico interfere no equilíbrio entre a betanina e seus produtos de degradação, o ácido betalâmico (BA) e o ciclo-dopa 5-O-glicosídeo (CDG), de modo a favorecer reações de degradação subsequentes destes dois compostos, impedindo definitivamente a regeneração da betanina.

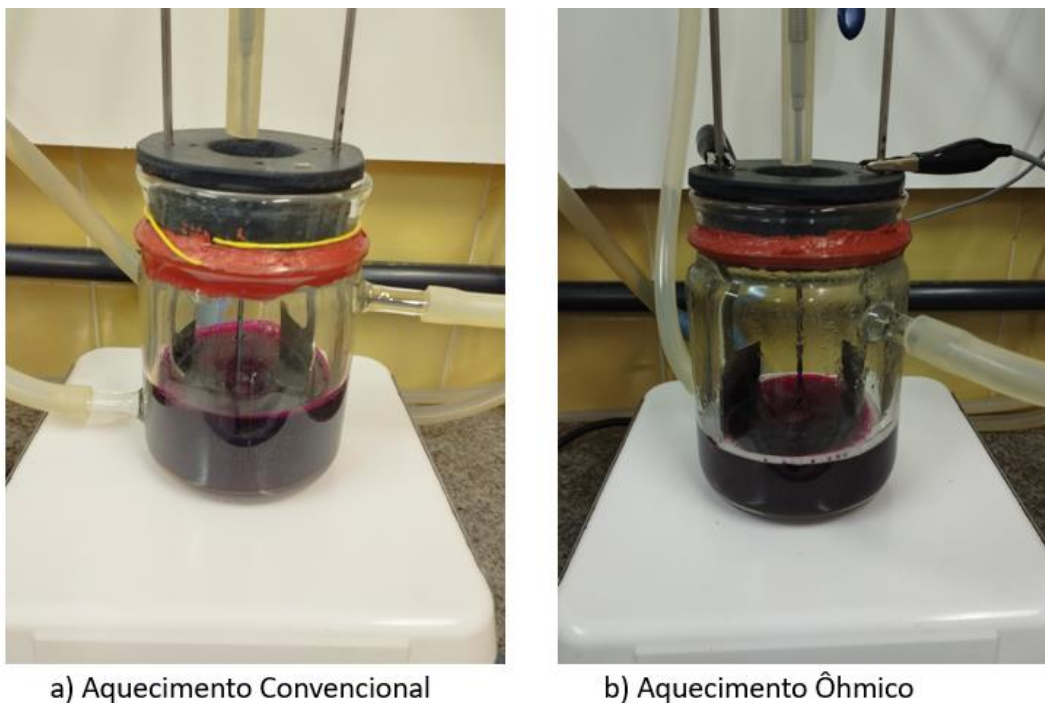
Conforme supracitado, nos tratamentos convencionais ocorreu um aumento da concentração das betacianinas pois, possivelmente, o calor promoveu um aumento da biodisponibilidade da molécula previamente ligada a açúcares ou polissacarídeos, portanto aumentando sua quantificação para valores acima de 100%. Todavia, este comportamento não ocorreu no aquecimento ôhmico, portanto a degradação não pôde ser compensada pela reação de regeneração proposta anteriormente, o que indica que os compostos de degradação formados sob aplicação de campo elétrico no suco são mais complexos do que somente BA e CDG.

Essa maior degradação das betacianinas quando o aquecimento ôhmico foi utilizado pode estar relacionada às reações eletroquímicas que podem ocorrer durante a passagem de corrente elétrica pelo suco. Reações de eletrólise da água e ácidos fracos, assim como corrosão dos eletrodos, podem ocorrer especialmente quando são utilizadas baixas frequências de campo elétrico e materiais não inertes na construção dos eletrodos.

Durante a realização dos experimentos, foi possível notar uma diferença visual na aparência do suco mediante os diferentes processos. A formação de espuma ocorreu em ambos tratamentos; no aquecimento convencional, a espuma apresentou a mesma cor do suco; no aquecimento ôhmico, por outro lado, observou-se que a espuma formada

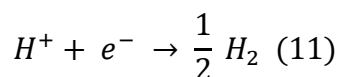
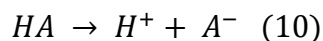
foi de coloração branca, diferindo da coloração do próprio suco, conforme pode ser observado na Figura 16.

Figura 16 – Aparência do suco de pitaya durante (a) aquecimento convencional e (b) aquecimento ôhmico, na mesma temperatura de tratamento.



Fonte: Autoria própria (2023).

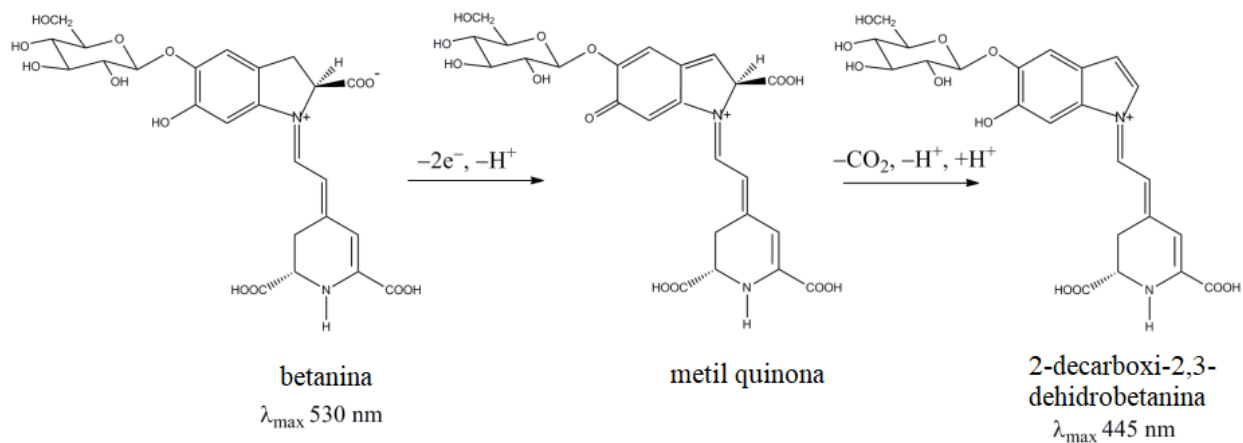
Essa constatação pode estar relacionada à ocorrência de alguma reação eletroquímica durante o tratamento ôhmico. Mercali (2014) relatou maiores degradações de ácido ascórbico quando polpa de acerola foi aquecida via tratamento ôhmico utilizando frequência de 10 Hz em comparação ao tratamento convencional na mesma temperatura. Qihua *et al.* (1993) inferiram que a eletrólise pode causar liberação de hidrogênio (H_2) e oxigênio (O_2), sendo esses gases responsáveis pelas bolhas. De acordo com Palaniappan & Sastry (1991), tal reação é comum no caso de sucos ácidos, tais como o suco do presente estudo, o qual apresentou pH de 4,45. A reação proposta pelos autores relaciona a dissociação de hidrogênio de ácidos fracos com a liberação de H_2 , conforme as Equações 10 e 11.



Lima *et al.* (1999) verificaram que eletrodos envoltos com filme de titânio não apresentaram sinais de formação de bolhas para suco de laranja no aquecimento ôhmico. No presente estudo, mesmo utilizando eletrodos de titânio, um material relativamente inerte, foi possível observar uma leve oxidação do material ao longo do uso. Wybraniec *et al.* (2013) avaliaram a estabilidade da betanina em soluções aquosas e, paralelamente, em diferentes solventes orgânicos, ambos com valores de pH de 3 a 8 na presença de diferentes cátions metálicos a 25°C. Os autores observaram uma capacidade da betanina de formar complexos com o Cobre (Cu²⁺), o que levou às maiores degradações após 24 horas de contato. Os autores relataram que a degradação da betanina somente pela exposição aos cátions metálicos variou de 11 a 73% dependendo do metal aplicado na solução. No presente estudo, uma frequência relativamente baixa foi utilizada, possivelmente favorecendo as reações de corrosão do titânio. Ressalta-se, no entanto, que a hipótese citada acima deve ser melhor investigada através de estudos mais aprofundados envolvendo a evolução de gases durante o aquecimento ôhmico de sucos ácidos.

Knorr *et al.* (2014) estudaram a aplicação de betanina como sensibilizador de dióxido de titânio (TiO₂) para conversão de energia solar em térmica devido à sua capacidade de absorver a luz UV, através da oxidação da betanina por um mecanismo de dois elétrons e um fóton até uma metil quinona, estrutura intermediária, a qual é rearranjada para 2-decarboxi-2,3-dehidrobetanina com a liberação de CO₂, conforme o mecanismo ilustrado na Figura 17.

Figura 17 – Reação de degradação da betanina frente a dois elétrons e um fóton em contato com TiO₂.



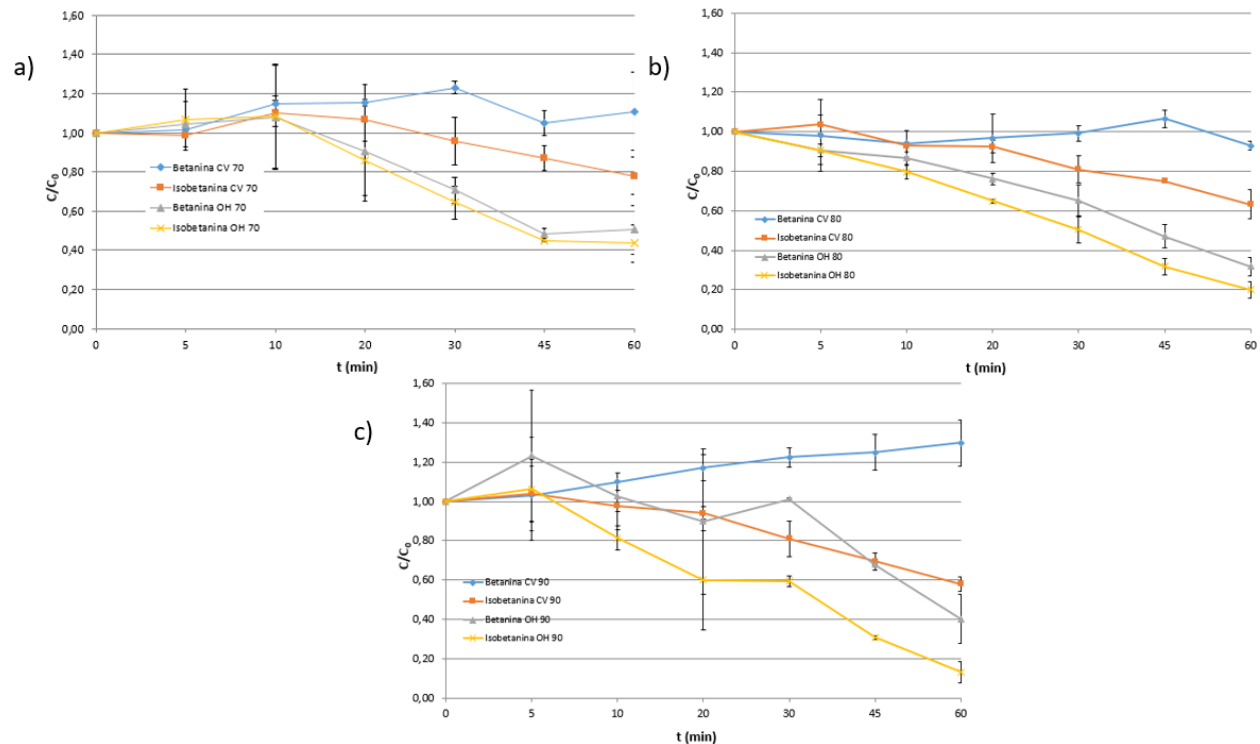
Fonte: Adaptado de Knorr *et al.* (2014).

O estudo mostra que o contato com o TiO₂ somado à incidência de luz é capaz de degradar a betanina. Muito embora as tensões aplicadas no estudo sejam da ordem de milivolts, tais resultados reiteram que as betacianinas podem ser sensíveis à presença de titânio quando existe uma diferença de potencial elétrica no meio.

5.3. Avaliação individual da cinética de degradação dos isômeros betanina e isobetanina

Por meio da análise de cromatografia líquida de alta eficiência é possível realizar a distinção entre os dois picos referentes à betanina e seu isômero, a isobetanina. A variação de concentração da betanina e isobetanina ao longo do experimento cinético é apresentada na Figura 18. Observa-se que, durante o aquecimento convencional, ocorre um distanciamento entre as curvas de concentração de betanina e isobetanina, o que pode ser explicado pelo fenômeno de epimerização, que é acelerado tanto pela acidez do suco quanto pelo calor durante o aquecimento. O aumento da concentração de betanina e a diminuição da concentração de isobetanina a partir de aproximadamente 20 minutos durante o aquecimento convencional é explicado pela interconversão de isobetanina em betanina (FENNEMA, 2017). Esse comportamento não se repete quando o suco é aquecido via aquecimento ôhmico. Com essa tecnologia, observa-se uma diminuição dos dois isômeros ao longo do tempo de aquecimento, o que reforça a teoria de que são formados compostos de degradação mais complexos sob efeito elétrico.

Figura 18 – Relação da concentração da betanina e isobetanina nos tratamentos convencional e ôhmico: (a) 70°C, (b) 80°C e (c) 90°C.



Fonte: Autoria própria (2023).

A Tabela 4 apresenta a retenção de betanina e isobetanina nos tempos de 30 e 60 minutos. Nota-se que a proporção de betanina aumenta em relação à isobetanina nos tratamentos convencionais a 70°C e 90°C. Entretanto, como ambos compostos possuem absorção de luz na mesma faixa do ultravioleta visível, a epimerização não afeta significativamente a cor do suco, conforme demonstrado na Figura 19, que apresenta a diferença de cor (ΔE) na das amostras aquecidas por ambas as tecnologias.

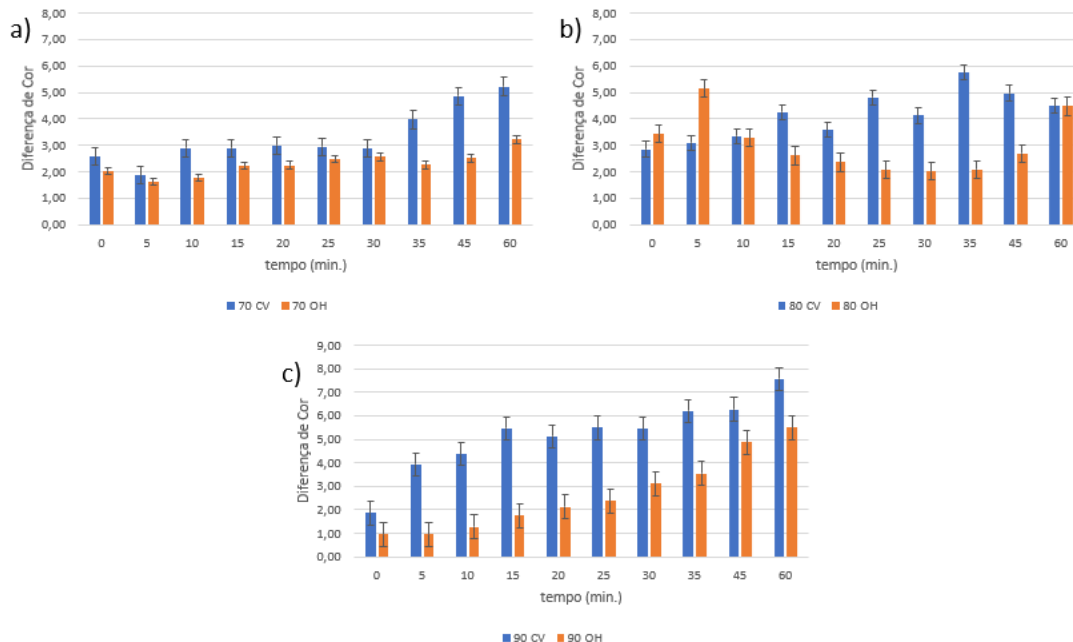
Tabela 4 – Retenção das betalaínas (%) obtidas por HPLC para os diferentes tratamentos nos tempos de 30 e 60 minutos.

Tratamento/Tempo	Betanina ($C/C_0 \times 100\%$)		Isobetanina ($C/C_0 \times 100\%$)	
	30 min.	60 min.	30 min.	60 min.
CV 70°C	122,9 ± 3,2 ^a	110,9 ± 19,8 ^b	95,9 ± 12,2 ^a	78,1 ± 9,8 ^a
OH 70°C	70,7 ± 6,7 ^c	50,4 ± 12,6 ^c	64,2 ± 8,5 ^c	43,4 ± 9,4 ^c
CV 80°C	99,2 ± 4,1 ^b	93,0 ± 2,2 ^b	81,0 ± 6,8 ^b	63,3 ± 7,3 ^b
OH 80°C	65,2 ± 8,2 ^c	31,8 ± 4,8 ^c	50,5 ± 6,9 ^d	20,0 ± 4,1 ^d
CV 90°C	122,5 ± 5,0 ^a	129,8 ± 11,6 ^a	81,0 ± 9,2 ^b	58,0 ± 3,6 ^b
OH 90°C	101,3 ± 0,5 ^b	40,3 ± 12,6 ^c	59,4 ± 2,7 ^{cd}	13,2 ± 5,4 ^d

Valores apresentados em termos de média ± desvio padrão das triplicatas de C/C_0 multiplicados por 100%. Colunas com letras iguais indicam que não houve diferença significativa entre os tratamentos a 5% de significância. Fonte: Autoria própria (2023).

5.4. Análises colorimétricas

Figura 19 – Diferença de cor (ΔE) para os tratamentos conduzidos via aquecimento ôhmico e convencional em temperaturas de a) 70°C, b) 80°C e c) 90°C.



Fonte: Autoria própria (2023).

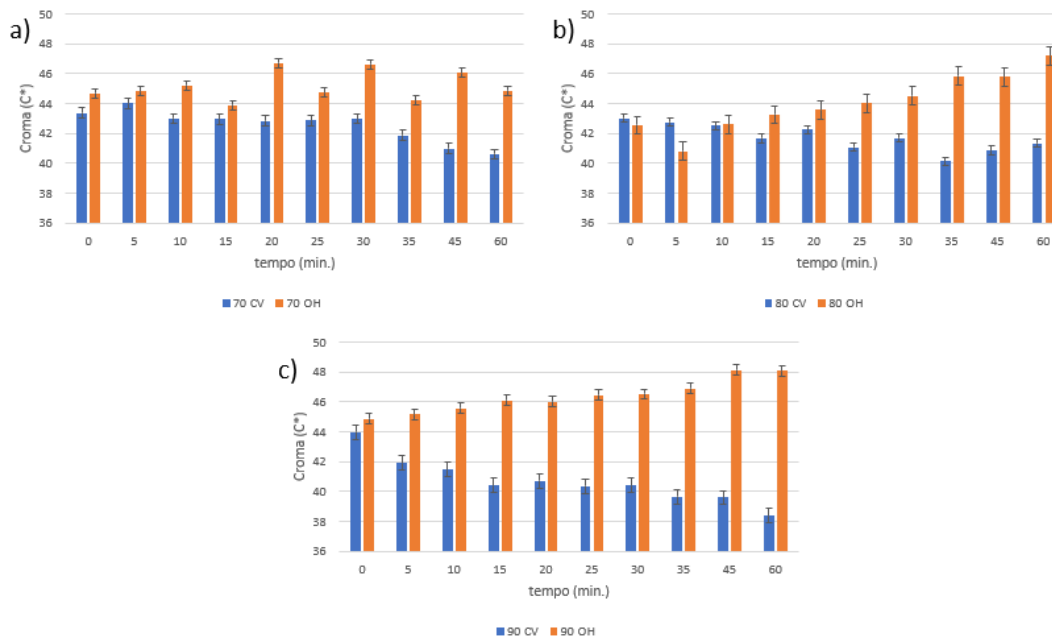
Na Figura 19, observa-se que no tratamento convencional, nas temperaturas de 70 e 90°C, há uma tendência de aumento na diferença total de cor (ΔE) com a evolução do tempo de tratamento. Essa tendência fica mais pronunciada nos tratamentos a 90°C, ôhmico e convencional, enquanto os demais ôhmicos apresentaram sinais de estabilidade. Não foi possível correlacionar o comportamento da diferença total de cor com a significativa degradação no aquecimento ôhmico, o que pode estar relacionado ao fato de os produtos de degradação também apresentarem coloração similar, mas absorvância diferente.

Importante ressaltar que o valor do ΔE indica uma diferença de cor da seguinte forma escalonada: uma diferença imperceptível na cor (0 a 0,5), uma pequena diferença (0,5 a 1,5), uma diferença quase perceptível (1,5 a 3,0), uma diferença notável (3,0 a 6,0), uma diferença extremamente notável (6,0 a 12,0) e acima de 12,0, uma tonalidade totalmente diferente (Tupuna-Yerovi *et al.*, 2020). Deste modo, pode-se verificar que o tratamento a 90°C obteve diferença de cor notável para quase todos os tempos no

convencional; e somente nos tempos finais, a partir de 35 minutos, no aquecimento ôhmico.

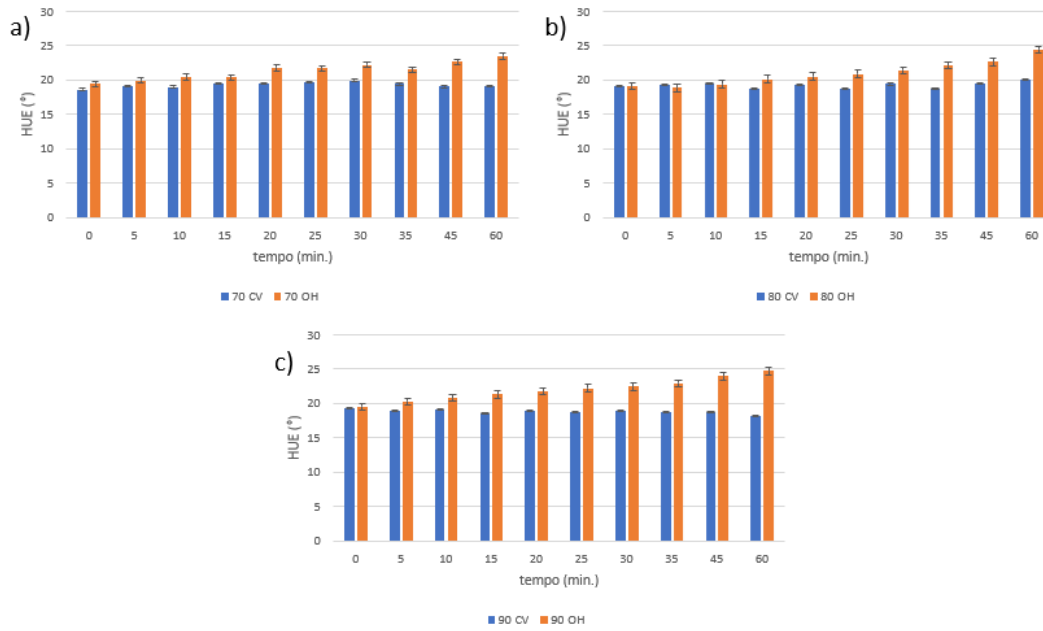
O mesmo comportamento do ΔE foi observado para os resultados do grau de saturação, croma (C^*), apresentados na Figura 20, e para o ângulo de tonalidade (HUE), apresentados na Figura 20. Nas temperaturas de 80 e 90°C, percebe-se maior grau de saturação C^* para o suco tratado pelo método ôhmico nos tempos finais, enquanto para 70°C, os valores de ambos tratamentos foram similares em todos os tempos. Quanto ao ângulo de tonalidade, não se percebe diferença analisando visualmente a Figura 21 para nenhum dos tratamentos aplicados, exceto para os tempos de 45 e 60 minutos a 90°C, onde o ôhmico apresentou maior saturação comparado ao convencional.

Figura 20 – Grau de saturação croma (C^*) para os tratamentos conduzidos via aquecimento ôhmico e convencional em temperaturas de a) 70°C, b) 80°C e c) 90°C.



Fonte: Autoria própria (2023).

Figura 21 – Ângulo de tonalidade HUE para os tratamentos conduzidos via aquecimento ôhmico e convencional em temperaturas de a) 70°C, b) 80°C e c) 90°C.



Fonte: Autoria própria (2023).

6. CONCLUSÕES

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a estabilidade de betalaínas durante o aquecimento ôhmico e convencional. Os resultados demonstraram que o uso da técnica de espectroscopia no ultravioleta visível foi satisfatório na quantificação de betalaínas, apresentando altos valores de correlação com a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência, a mais recomendada para realização desse tipo de análise dada sua alta seletividade e especificidade para quantificação de compostos.

A alta estabilidade das betacianinas do suco de pitaya frente ao tratamento convencional indica que este método é adequado para aplicação de tratamento térmico, sem prejuízo significativo à sua qualidade. Contudo, são indicados estudos abordando a capacidade antioxidante das betalaínas pós-tratamento térmico a fim de garantir sua funcionalidade e estabilidade no suco tratado. Com relação ao aquecimento ôhmico, maiores taxas de degradação foram observadas em todas as temperaturas avaliadas. Reações eletroquímicas podem ocorrer, liberando metais e radicais livres no meio, o que contribui para a degradação dos pigmentos presentes no suco da pitaya. Contudo, essa hipótese ainda precisa ser confirmada com novos estudos capazes de quantificar e detectar a ocorrência dessas reações durante o uso da tecnologia de aquecimento ôhmico.

Esse estudo contribui para a compreensão do comportamento cinético de compostos bioativos frente às tecnologias convencionais e emergentes. Tais temas são de grande interesse da indústria de alimentos a fim de elucidar cada vez mais os efeitos de diferentes métodos de processamento sobre aspectos de qualidade dos alimentos.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

31st JECFA (1987), published in FNP 38 (1988) and in FNP 52 (1992). Disponível em: <https://www.fao.org/fileadmin/user_upload/jecfa_additives/docs/Monograph1/Additive-052.pdf>. Acesso em fev. 2023.

ABREU, W. C. *et al.* Características físico-químicas e atividade antioxidante total de pitaias vermelha e branca. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 71, n. 4, p. 656-661, 2012. Disponível em: <<https://docs.bvsalud.org/biblioref/ses-sp/2012/ses-27194/ses-27194-4040.pdf>>. Acesso em mar. 2023.

ALKANAN, Z. T. *et al.* Ohmic Heating in the Food Industry: Developments in Concepts and Applications during 2013–2020. **Applied Sciences**, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/app11062507>>. Acesso em fev. 2023.

ATTOE, E. L.; VON ELBE, J. H. Photochemical Degradation of Betanine and Selected Anthocyanins. **Journal of Food Science**, 46: 1934-1937, 1981. Disponível: <<https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1981.tb04522.x>>. Acesso em fev. 2023.

AZEREDO, H. M. C. Betalains: Properties, sources, applications, and stability - A review. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 44, n. 12, p. 2365–2376, 2009. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CNPAT-2010/11550/1/PA09018.pdf>>. Acesso em fev. 2023.

BERGMAN, Theodore L. **Incropera - Fundamentos de Transferência de Calor e de Massa**. Editora LTC. Grupo GEN, 2019. E-book. ISBN 9788521636656. Disponível em: <<https://app.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788521636656/>>. Acesso em mar. 2023.

BRASIL. Instrução Normativa – IN nº 211, de 1º de março de 2023. Estabelece as funções tecnológicas, os limites máximos e as condições de uso para os aditivos alimentares e os coadjuvantes de tecnologia autorizados para uso em alimentos. Agência

Nacional de Vigilância Sanitária. **Diário Oficial da União**. Disponível em: <<https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-in-n-211-de-1-de-marco-de-2023-468509746>>. Acesso em mar. 2023.

BRASIL. Resolução Nº 216, de 15 de setembro de 2004. Dispõe sobre Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Diário Oficial da União**. Disponível em: <https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2004/res0216_15_09_2004.html>. Acesso em mar. 2023.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio. Lavras: Ed. UFLA, 2005. 2. ed. rev. e ampl. 785 p.

CORDEIRO, M. H. M. *et al.* Caracterização física, química e nutricional da pitaya rosa de polpa vermelha. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 37, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/0100-2945-046/14>>. Acesso em mar. 2023.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L. **Química de alimentos de Fennema**. Editora Artmed: Grupo A, 2019. E-book. ISBN 9788582715468. Disponível em: <<https://app.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788582715468/>>. Acesso em fev. 2023.

FRYER, P.J. *et al.* Ohmic processing of solid-liquid mixtures: Heat generation and convection effects. **Journal of Food Engineering**, v. 18, issue 2, p. 101-125, 1993. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/0260-8774\(93\)90031-E](https://doi.org/10.1016/0260-8774(93)90031-E)>. Acesso em mar. 2023.

FURTADO, Angela Aparecida Lemos. Tratamento Térmico. **EMBRAPA Agroindústria de Alimentos**. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/tematicas/tecnologia-de-alimentos/processos/tipos-de-processos/tratamento-termico>>. Acesso em mar. 2023.

HALLIDAY, David; RESNICK, Robert; WALKER, Jearl. **Fundamentos de Física - Vol. 3 - Eletromagnetismo**, 10ª edição. Editora LTC. Grupo GEN, 2016. E-book. ISBN 9788521632092. Disponível em: <<https://app.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788521632092/>>. Acesso em mar. 2023.

HARDINASINTA, G. *et al.* Degradation kinetics of anthocyanin, flavonoid, and total phenol in bignay (*Antidesma bunius*) fruit juice during ohmic heating. **Food Science and Technology**, v. 42, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/fst.64020>>. Acesso em mar. 2023.

HERBACH, K.M. *et al.* Effects of processing and storage on juice colour and betacyanin stability of purple pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) juice. **European Food Research and Technology** 224, 649–658, 2007. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s00217-006-0354-5>>. Acesso em mar. 2023.

HERBARCH, K.M.; STINTZING, F.C.; CARLE, R. (2006), Betalain Stability and Degradation — Structural and Chromatic Aspects. **Journal of Food Science**, 71: R41-R50. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2006.00022.x>>. Acesso em jan. 2023.

HUANG, A. S.; VON ELBE, J. H. Effect of pH on the Degradation and Regeneration of Betanine. **Journal of Food Science**, 52: 1689-1693, 1987. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1987.tb05907.x>>. Acesso em fev. 2023.

HUANG, A. S.; VON ELBE, J. H. Kinetics of the Degradation and Regeneration of Betanine. **Journal of Food Science**, v. 50, n. 4, p. 1115–1120, 1985. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1985.tb13024.x>>. Acesso em fev. 2023.

IM, J. S.; PARKIN, K. L.; VON ELBE, J. H. Endogenous Polyphenoloxidase Activity Associated with the “Black Ring” Defect in Canned Beet (*Beta vulgaris* L.) Root Slices.

Journal of Food Science, 55: 1042-1045, 1990. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1990.tb01593.x>>. Acesso em fev. 2023.

JALGAONKAR, Kirti *et al.* Postharvest Profile, Processing and Waste Utilization of Dragon Fruit (*Hylocereus spp.*): A Review. **Food Reviews International**, v. 38, n. 4, p. 733-759, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/87559129.2020.1742152>>. Acesso em mar. 2023.

KNORR, F.J. *et al.* Two-electron photo-oxidation of betanin on titanium dioxide and potential for improved dye-sensitized solar energy conversion. 2014. **Optics & Photonics - NanoScience + Engineering**. Disponível em: <<https://doi.org/10.1117/12.2063888>>. Acesso em mar. 2023.

LIMA, Marybeth *et al.* Ascorbic acid degradation kinetics during conventional and ohmic heating. *Journal of Food Processing and Preservation*, v. 23, issue 5, p. 421-443. 1999. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/j.1745-4549.1999.tb00395.x>>. Acesso em mar. 2023.

LONGARAY, Jordana Nunes. **Estudo da degradação de betalaínas no suco de beterraba via aquecimentos ôhmico e convencional**. Trabalho de Conclusão de Curso em Engenharia Química – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2014. Disponível em: <<https://lume.ufrgs.br/handle/10183/159271>>. Acesso em jan. 2023.

MERCALI, G. D. *et al.* Ascorbic acid degradation and color changes in acerola pulp during ohmic heating: effect of electric field frequency, **Journal of Food Engineering**, v. 123, p. 1-7, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.09.011>>. Acesso em jan. 2023.

MERCALI, Giovana Domeneghini. **Tratamento térmico de polpa de acerola via aquecimento ôhmico**. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade

Federal do Rio Grande do Sul. 2013. Disponível em: <<https://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/75876>>. Acesso em jan. 2023.

MOHD ADZIM, K. R. *et al.* Proximate composition and selected mineral determination in organically grown red pitaya (*Hylocereus sp.*). **Journal of Tropical Agricultural and Food Science**, v. 34, n. 2, p. 269–275, 2006. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/224857194_Proximate_composition_and_selected_mineral_determination_in_organically_grown_red_pitaya_Hylocereus_sp>. Acesso em jan. 2023.

MOHD ADZIM, K. R. *et al.* Proximate composition and selected mineral determination in organically grown red pitaya (*Hylocereus sp.*). **Journal of Tropical Agricultural and Food Science**, v. 34, n. 2, p. 269–275, 2006. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/224857194_Proximate_composition_and_selected_mineral_determination_in_organically_grown_red_pitaya_Hylocereus_sp#fullTextFileContent>. Acesso em mar. 2023.

NUNES *et al.* Pitaia (*Hylocereus sp.*): uma revisão para o Brasil. **Gaia Scientia**, v. 8, p. 90-98, 2014. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/137850/1/ART15058.pdf>>. Acesso em mar. 2023.

NUR ALIAA, A. R. *et al.* Response surface optimization for clarification of white pitaya juice using a commercial enzyme. **Journal of Food Process Engineering**, v. 33, n. 2, p. 333-347, 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/j.1745-4530.2008.00277.x>>. Acesso em mar. 2023.

OHLSSON, T. Minimal processing of foods with thermal methods. In: T. Ohlsson e N. Bengtsson (Ed.). **Minimal processing technologies in the food industry**. Londres: Woodhead Publishing Limited 2002. Minimal processing of foods with thermal methods.

PALANIAPPAN, S.; SASTRY, S. K. Electrical conductivity of selected juices: influences of temperature, solids content, applied voltage and particle size. **Journal of Food Process Engineering**, v. 14, p. 247-260, 1991. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/j.1745-4530.1991.tb00135.x>>. Acesso em mar. 2023.

PASCH, J. H.; VON ELBE, J. H. Betanine degradation as influenced by water activity. **Journal of Food Science**, 40: 1145-1147, 1975. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1975.tb01038.x>>. Acesso em fev. 2023.

QIHUA, T.; JINDAL, V.K.; VAN WINDEN, J. Design and performance evaluation of an ohmic heating unit for liquid foods. **Computers and Electronics in Agriculture**, v.9, n.3, p.243-253, 1993. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/016816999390042Y>>. Acesso em mar. 2023.

REBECCA, Ow Phui San; BOYCE, Amru Nasrulhaq; SOMASUNDRAM, Chandran. Pigment identification and antioxidant properties of red dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*). **African Journal of Biotechnology**, v. 9, p. 1450-1454, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.5897/AJB09.1603>>. Acesso em mar. 2023.

RUAN, R. *et al.* Ohmic heating. In: P. Richardson (Ed.). **Thermal technologies in food processing**. Londres: Woodhead Publishing Limited, 2001. Chapter: Ohmic heating.

SANTANA, Daniela Lira de. **Secagem por atomização do suco de pitaya vermelha (*Hylocereus Costaricensis*) cultivada na região amazônica para obtenção de corante natural em pó**. Tese (Doutorado em Engenharia de Recursos Naturais) – Universidade Federal do Pará. Disponível em: <<https://proderna.propesp.ufpa.br/ARQUIVOS/teses/2019/Tese%20N%C2%BA%2076%20-%20PRODNERNA%20-%20Daniela%20Lira%20de%20Santana.pdf>>. Acesso em mar. 2023.

SARKIS, J. R. *et al.* Evaluation of key parameters during construction and operation of an ohmic heating apparatus. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 18, p. 145–154, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ifset.2013.02.001>>. Acesso em fev. 2023.

SCARCELLI, E.; PIATTI, R.M. Patógenos emergentes relacionados à contaminação de alimentos de origem animal. **Biológico**, São Paulo, v.64, n.2, p.123127, 2002. Disponível em: <http://www.biologico.agricultura.sp.gov.br/uploads/docs/bio/v64_2/scarcelli.pdf>. Acesso em mar. 2023.

SCHMITZ, Frederico. **Avaliação dos efeitos não-térmicos do aquecimento ôhmico sobre a degradação de antocianinas em polpa de jabuticaba**. Trabalho de Conclusão de Curso em Engenharia Química – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2014. Disponível em: < <https://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/85655>>. Acesso em mar. 2023.

SCHWARTZ, S. J.; VON ELBE, J. H. Identification of betanin degradation products. **Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung**, v. 176, p. 448–453 (1983). Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/BF01042560>>. Acesso em fev. 2023.

SERRIS, G. S.; BILIADERIS, C. G. Degradation kinetics of beetroot pigment encapsulated in polymeric matrices. **Journal of the Science and Food Agriculture**, v. 81, p. 691-700, 2001. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/jsfa.864>>. Acesso em fev. 2023.

SOMAVAT, R.; MOHAMED, H. M. H.; SASTRY, S. K. Inactivation kinetics of *Bacillus coagulans* spores under ohmic and conventional heating. **LWT - Food Science and Technology**, v. 54, n. 1, p. 194-198, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.04.004>>. Acesso em mar. 2023.

STINTZING, F.; SCHIEBER, A.; CARLE, R. Evaluation of colour properties and chemical quality parameters of cactus juices. **European Food Research and Technology**, v. 216, p. 303-311, 2003. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s00217-002-0657-0>>. Acesso em mar. 2023.

STUMBO, C. R. 1965. **Thermobacteriology in Food Processing**. Academic Press. New York.

TADINI, Carmen C. **Operações Unitárias na Indústria de Alimentos**. Volume I. Editora LTC: Grupo GEN, 2015. E-book. ISBN 978-85-216-3034-0. Disponível em: <<https://app.minhabiblioteca.com.br/#/books/978-85-216-3034-0/>>. Acesso em mar. 2023.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. Editora Artmed: Grupo A, 2017. E-book. ISBN 9788582713549. Disponível em: <<https://app.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788582713549/>>. Acesso em mar. 2023.

TUPUNA-YEROVI, D. S. *et al.* Addition of norbixin microcapsules obtained by spray drying in an isotonic tangerine soft drink as a natural dye. **Journal of Food Science and Technology**, v. 57, n. 3, p. 1021–1031, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s13197-019-04135-4>>. Acesso em mar. 2023.

UTPOTT, Michele. **Desenvolvimento de farinha de pitaya de polpa vermelha (*Hylocereus polyrhizus*) e microcápsulas de betalaínas como ingredientes alimentares**. Tese (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2019. Disponível em: <<https://lume.ufrgs.br/handle/10183/196659>>. Acesso em jan. 2023.

VALDERRAMA, Patrícia; MARANGONI, Fabiane; CLEMENTE, Edmar. Efeito do tratamento térmico sobre a atividade de peroxidase e polifenoloxidase em maçã (*Mallus*

comunis). **Food Science and Technology**, 2001. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0101-20612001000300012>>. Acesso em mar. 2023.

WASSERMAN, B. P.; EIBERGER, L. L.; GUILFOY, M. P. Effect of Hydrogen Peroxide and Phenolic Compounds on Horseradish Peroxidase-Catalyzed Decolorization of Betalain Pigments. **Journal of Food Science**, v. 49, p. 536-538, 1984. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1984.tb12461.x>>. Acesso em mar. 2023.

WETTASINGHE, M. *et al.* Phase II enzyme-inducing and antioxidant activities of beetroot (*Beta vulgaris L.*) extracts from phenotypes of different pigmentation. **J Agric Food Chem**. Nov 6;50(23):6704-9, 2002. Disponível em: <doi: 10.1021/jf020575a>. Acesso em fev. 2023.

WICHIENCHOT, S.; JATUPORNPIPAT, M.; RASTALL, R. A. Oligosaccharides of pitaya (dragon fruit) flesh and their prebiotic properties. **Food Chemistry**, v. 120, n. 3, p. 850–857, 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.11.026>>. Acesso em mar. 2023.

WYBRANIEC, S. *et al.* Effects of metal cations on betanin stability in aqueous-organic solutions. **Journal of Food Science and Biotechnology**, v. 22, issue 2, 353–363, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10068-013-0088-7>>. Acesso em mar. 2023.

WYBRANIEC, S. *et al.* Separation of polar betalain pigments from cacti fruits of *Hylocereus polyrhizus* by ion-pair high-speed countercurrent chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, n. 41, p. 6890–6899, 2009. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.08.035>>. Acesso em fev. 2023.

ZEE, F.; YEN, C. R.; NISHINA, M. Pitaya (Dragon Fruit / Strawberry Pear). Disponível em: <<https://scholarspace.manoa.hawaii.edu/server/api/core/bitstreams/85b8250d-3b81-422f-97b2-c3518f1b3fa5/content>>. Acesso em mar. 2023.

ZHU, Wenxian *et al.* Application of Thermosonication in Red Pitaya Juice Processing: Impacts on Native Microbiota and Quality Properties during Storage. **Foods**, v. 10, n. 5, p. 1041, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/foods10051041>>. Acesso em mar. 2023.