

ADRIANA LUIZA FERREIRA

**INFLUÊNCIA DA APLICAÇÃO DE OZÔNIO NA QUALIDADE E VIDA
DE PRATELEIRA DE PITAIA (*Hylocereus polyrhizus*) MINIMAMENTE
PROCESSADA**

ASSIS

2018

ADRIANA LUIZA FERREIRA

**INFLUÊNCIA DA APLICAÇÃO DE OZÔNIO NA QUALIDADE E VIDA
DE PRATELEIRA DE PITAIA (*Hylocereus polyrhizus*) MINIMAMENTE
PROCESSADA**

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências e Letras de Assis – UNESP – Universidade Estadual Paulista para a obtenção do título de Mestre em Biociências (Área de Conhecimento: Caracterização e Aplicação da Diversidade Biológica).

Orientadora: Ivanise Guilherme Branco

ASSIS

2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca da F.C.L. – Assis – Unesp

F383i Ferreira, Adriana Luiza
 Influência da aplicação de ozônio na qualidade e vida de
 prateleira de Pitaia (*Hylocereus polyrhizus*) minimamente
 processada / Adriana Luiza Ferreira. Assis, 2018.
 87 f. : il.

 Dissertação de Mestrado – Universidade Estadual Paulista
 (UNESP), Faculdade de Ciências e Letras, Assis
 Orientador: Dr^a Ivanise Guilherme Branco

 1. Pitaia. 2. Ozonio. 3. Frutas- conservação. 4. Alimentos
 saudáveis. I. Título.

CDD 664.8

ADRIANA LUIZA FERREIRA

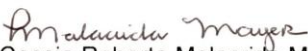
INFLUÊNCIA DA APLICAÇÃO DE OZÔNIO NA QUALIDADE E VIDA DE
PRATELEIRA DE PITAIA ("Hylocereus polyrhizus") MINIMAMENTE
PROCESSADA

Dissertação apresentada à Universidade Estadual
Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências e Letras,
Assis, para obtenção do título de Mestrado
Acadêmico em BIOCÊNCIAS.
(Área de Conhecimento: CARACTERIZAÇÃO E
APLICAÇÃO DA DIVERSIDADE BIOLÓGICA)

Data da Aprovação: 06/03/2018

COMISSÃO EXAMINADORA

PRESIDENTE: PROFA. DRA. Ivanise Guilherme Branco - UNESP/ASSIS


MEMBROS: PROFA. DRA. Cassia Roberta Malacrida Mayer - UNESP/ASSIS

PROF. DR. Bruno Henrique de Oliveira - UNIVESP/ASSIS

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho, primeiramente, a Deus por estar sempre ao meu lado me abençoando e protegendo; em especial a minha família e meu namorado por toda ajuda e incentivo; e a todos que contribuíram com essa pesquisa.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus por me abençoar em todas as etapas do mestrado, fazendo o impossível tornar-se realidade, por mais uma conquista em minha vida.

A minha orientadora Profa. Dra. Ivanise Guilherme Branco, minha gratidão, primeiramente por aceitar me orientar nessa pesquisa, pela constante ajuda em todas as etapas, dedicação em aprimorar mais este trabalho, pela amizade e ensinamentos que me fizeram adquirir ainda mais conhecimentos.

Aos professores, em especial, Prof. Dr. Ciro César Zanini Branco, Prof. Dr. Pitágoras Bispo e Prof. Dr. Eutímio Gustavo Fernández Núñez e aos demais professores por me acolherem no programa, pela constante dedicação, ajuda e ensinamentos transmitidos que foram de extrema importância para conclusão do mestrado, meu muito obrigado.

A banca examinadora Profa. Dra. Cássia Roberta Malacrida Mayer, Profa. Dra. Valéria Marta Gomes do Nascimento e Prof. Dr. Bruno Henrique de Oliveira, por aceitarem o convite, pelas correções e sugestões que fizeram enriquecer ainda mais este trabalho.

Ao laboratório de Biociências e ao de Microbiologia por ceder espaço para que as análises fossem realizadas, bem como aos técnicos e estagiários pela colaboração.

A todos os amigos tanto do trabalho (Lilian e Letícia), como da universidade (Marcela, Luana e Karen), pelo carinho, amizade e apoio.

A minha mãe, Neusa L. C. Ferreira, por ser uma mulher sábia que sempre me ensina a andar nos caminhos de Deus e nos princípios da ética; pelos constantes conselhos e incentivos na minha realização profissional e também pessoal.

A minha irmã e amiga, Ana Paula Ferreira da Silva e meu cunhado, Eduardo Vinicius da Silva pelos conselhos, por sempre me apoiarem e pelas correções que contribuíram muito para aperfeiçoamento deste trabalho.

Ao meu sobrinho, Guilherme, pela sua alegria que torna minha vida mais feliz.

Ao meu namorado Rodolfo José Tófoli, que sempre esteve ao meu lado desde o princípio, por toda ajuda que foram de extrema importância para a conclusão desse trabalho, por todo auxílio, incentivo e apoio em todos os momentos, fazendo meus sonhos se tornarem realidade, minha gratidão.

Aos meus sogros, Edlene e Carlos, por todo apoio e torcida.

Cada página dessa dissertação é meu agradecimento a Deus, aos meus familiares, professores, amigos e a toda equipe da seção de pós-graduação, que de alguma forma contribuíram para eu alcançar esse objetivo.

“Sei que podes fazer todas as coisas; nenhum dos teus planos pode ser frustrado”.

Jó 42:2

FERREIRA, Adriana Luiza. **INFLUÊNCIA DA APLICAÇÃO DE OZÔNIO NA QUALIDADE E VIDA DE PRATELEIRA DE PITAIA** (*Hylocereus polyrhizus*) **MINIMAMENTE PROCESSADA**. 2018. 87 f. Dissertação (Mestrado Acadêmico em Biociências). – Faculdade de Ciências e Letras, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Assis, 2018.

RESUMO

A demanda por frutas e hortaliças minimamente processadas no mercado está relacionada às mudanças no estilo de vida do ser humano, na busca por consumo saudável, nutritivo e rápido. Entretanto, os tratamentos aplicados nesses alimentos, na maioria das vezes, causam danos nos tecidos, acarretando no escurecimento, perda de sabor, textura e aumento da carga microbiana no produto. Desta forma, os métodos de produção e procedimentos de desinfecção e descontaminação são medidas de extrema importância para garantir maior qualidade dos cortes frescos de frutas e vegetais. Estudos têm mostrado que o ozônio é um poderoso agente antimicrobiano, podendo ter muitas vantagens para a indústria de frutas, aumentando assim, a vida de prateleira. A pitáia (*Hylocereus polyrhizus*) que é uma fruta de sabor doce e suave, paladar similar entre kiwi e melão, com a polpa constituindo cerca de 70 a 80% do fruto, vem se tornando um produto de destaque no mercado brasileiro de minimamente processados, devido a sua elevada qualidade sensorial e valor nutricional. Assim, considerando o interessante processo de sanitização por ozonização e as relevantes características sensoriais e nutricionais apontadas pela pitáia, este estudo teve dois objetivos gerais que foram: i) estudar a influência do diâmetro dos cortes das frutas, concentração de ozônio e tempo de ozonização na qualidade de pitáia minimamente processada, em relação aos compostos fenólicos, capacidade antioxidante e antocianinas totais, utilizando um delineamento experimental do tipo Box Behnken; ii) a partir da condição otimizada obtida no primeiro estudo, foi determinada a vida de prateleira, através de análises microbiológicas e físico-químicas dos cortes de fruta *in natura* sem tratamento e ozonizada.

Palavras-chave: Pitáia, Ozônio, Delineamento experimental, Vida de prateleira.

FERREIRA, Adriana Luiza. **INFLUENCE OF THE APPLICATION OF OZONE IN THE QUALITY AND SHELF LIFE OF PITAIA (*Hylocereus polyrhizus*) MINIMALLY PROCESSED**. 2018. 87 s. Dissertation (Master's Degree in Biosciences) - Faculdade de Ciências e Letras, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Assis 2018.

ABSTRACT

The demand for minimally processed fruits and vegetables on the market is related to changes in the human lifestyle, the search for healthy, nutritious and fast consumption. However, the treatments applied in these foods, most of the time, cause damage to the tissues, resulting in darkening, loss of taste, texture and increase of the microbial load in the product. In this way, the production methods and procedures of disinfection and decontamination are measures of extreme importance to guarantee higher quality of the fresh cuts of fruits and vegetables. Studies have shown that ozone is a powerful antimicrobial agent, and can have many advantages for the fruit industry, thus increasing shelf life. The pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) is a fruit with a sweet and smooth flavor, a similar taste between kiwi and melon, with pulp constituting about 70 to 80% of the fruit, and has become a prominent product in the Brazilian market of minimally processed, due to its high sensory quality and nutritional value. Thus, considering the interesting process of sanitization by ozonation and the relevant sensory and nutritional characteristics pointed out by pitaya, this study had two general objectives: i) to study the influence of fruit cut diameter, ozone concentration and ozonation time on quality of pitaya minimally processed, in relation to the phenolic compounds, antioxidant capacity and total anthocyanins, using an experimental design of the Box Behnken type; ii) from the optimized condition obtained in the first study, the shelf life was determined through microbiological and physicochemical analyzes of untreated and ozonated fresh fruit cuts.

Keywords: Pitaya, Ozone, Experimental Design, Shelf life.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	14
REFERÊNCIAS.....	18
Capítulo 1. Efeito da ozonização e tipo de corte da fruta nos compostos fenólicos, atividade antioxidante e antocianinas da fruta fresca pitaia (<i>Hylocereus polyrhizus</i>).....	20
RESUMO.....	20
ABSTRACT.....	21
1 Introdução.....	22
Figura 1 – Plantação e corte da pitaia (<i>H. polyrhizus</i>) (In: Braga, 2017).....	22
Figura 2 – Estruturas das antocianinas (In: Favaro, 2008, p.9).	27
2 Materiais e Métodos	27
2.1 Reagentes químicos	27
2.2 Coleta das frutas e preparo das amostras	28
2.3 Aplicação de ozônio	28
Figura 3 – Sistema de aplicação de ozônio no corte da fruta fresca pitaia.	29
Figura 4 – Câmara de aplicação de ozônio nos cortes de fruta.	30
2.4 Obtenção dos extratos de pitaia.....	31
Figura 5 – Semicircunferências de corte do fruto pitaia.	32
2.5 Compostos Fenólicos Totais.....	32
2.6. Atividade Antioxidante.....	33
2.6.1 ABTS	33
2.6.2 DPPH	33
2.7 Antocianinas.....	33
2.8 Design experimental	34
2.9 Análise Estatística.....	35
3 Resultados e Discussão	36
Tabela 1 – Variáveis independentes com as respectivas respostas obtidas do delineamento experimental (BBD)	37
3.1 Desenvolvimento do modelo e otimização das variáveis experimentais.....	38
Tabela 2 – Variáveis das equações do modelo experimental.	38
Tabela 3 – Análise de variância ANOVA.....	40
Figura 6 – Superfície de resposta da atividade antioxidante por DPPH.....	42

Figura 7 – Superfície de resposta da atividade antioxidante por ABTS.	42
Figura 8 – Superfície de resposta de compostos fenólicos totais.	43
Figura 9 – Superfície de resposta de antocianinas totais.....	43
3.2 Efeito do tipo de corte, tempo e concentração de ozônio na atividade antioxidante de pitaia ozonizada.	44
3.3 Impacto dos resultados de compostos fenólicos e antocianinas totais em relação às variáveis independentes sobre a extração.	46
Figura 10 – Formas estruturais relacionadas com a coloração.....	49
3.4 Validação do delineamento experimental	50
4 Conclusão	52
Referências	53
 Capítulo 2. Vida de prateleira do fruto pitaia minimamente processado:	
caracterização físico-química e microbiológica.	58
RESUMO.....	58
ABSTRACT.....	59
1. Introdução.....	60
2. Material e Método	63
2.1 Coleta das amostras e preparo para a vida de prateleira do fruto pitaia.....	63
Figura 1 – Frutos minimamente processados acondicionados em embalagens PET.....	65
2.2 Análises físicas e químicas	65
2.2.1 Mensuração da perda de peso.....	65
2.2.2 pH	66
2.2.3 Acidez Total.....	66
2.2.4 Umidade.....	67
2.2.5 Sólidos Solúveis	67
2.3 Caracterização de biocomposto.....	67
2.3.1 Reagentes químicos	67
2.3.2 Preparo do Extrato.....	67
2.3.3 Fenóis Totais.....	68
2.3.4 Atividade Antioxidante por ABTS e DPPH.....	68
2.3.5 Antocianinas	69

2.4 Análises microbiológicas	69
2.4.1 Meios de cultura utilizados e preparo da solução	69
2.4.2 Preparo dos materiais utilizados	70
2.4.3 Contagem padrão de bactérias aeróbias mesófilas	70
2.4.4 Fungos	70
3 Resultados e discussões	70
3.1 Análises físico – químicas	70
Tabela 1 – Resultados das análises físico-químicas de pitáia minimamente processada.	71
3.2 Análises microbiológicas para bactérias aeróbicas mesófilas e fungos / leveduras	74
Tabela 2 – Resultados das análises microbiológicas para pitáia minimamente processada durante armazenamento a 5°C.....	75
3.3 Comparação entre os resultados obtidos na vida de prateleira para atividade antioxidante (ABTS e DPPH), compostos fenólicos e antocianinas.....	78
Tabela 3 – Resultados das análises de atividade antioxidante, compostos fenólicos e antocianinas para pitáia minimamente processada.	79
4 Conclusão	82
Referências	83
CONCLUSÃO GERAL	87

INTRODUÇÃO

As frutas são importantes fontes de antioxidantes, vitaminas e minerais na dieta humana. Uma alta ingestão dietética destas vitaminas é associada a redução de risco de doenças, principalmente, cardiovasculares. Por esta razão, além do exercício físico e da genética, o consumo de frutas é considerado um dos principais fatores para uma vida saudável (Alothman *et al.*, 2010).

O consumo de frutas e hortaliças minimamente processadas tem se tornado cada vez mais popular ao longo da última década, devido a um maior interesse em dietas e estilos de vida, mudanças no consumo saudáveis e nutritivos (Sipahi *et al.*, 2013). No entanto, as operações de tratamento tais como descascamento e corte podem causar danos nos tecidos do produto. As várias alterações prejudiciais durante o processamento de frutas e hortaliças incluem escurecimento do tecido, aumento da carga microbiana e perda de sabor e textura (Azarakhsh *et al.*, 2014).

As frutas e hortaliças frescas minimamente processados são preparadas utilizando uma combinação de métodos tais como: descascamento, corte e/ou trituração, seguindo do acondicionamento em embalagem com películas adequadas para manutenção das condições de embalagem com atmosfera modificada (Alothman *et al.* 2010).

Os efeitos da etapa de corte no processamento de frutas e vegetais frescos são bem conhecidos por promover rápida deterioração dos tecidos em comparação com seus componentes intactos. Em particular, o crescimento e o desenvolvimento microbiano, a partir de reações bioquímicas em tecidos de plantas, são responsáveis pela degradação do produto, deterioração dos alimentos e também risco de

infecções alimentares (Manzocco, Pieve e Maifreni, 2011). Métodos de produção segura e procedimentos de desinfecção/descontaminação adequados são, portanto, medidas fundamentais para garantir a segurança de frutas e vegetais frescos (Abadias *et al.*, 2011).

O cloro é o desinfetante mais comum utilizado em frutas e vegetais minimamente processados (Dilmaçunal *et al.*, 2014). Porém, nos últimos anos a indústria de frutas e vegetais tem aplicado novas tecnologias para transformação de minimamente processamentos. Por exemplo, irradiação UV, ozônio, campos elétricos pulsados, campos magnéticos, ultra-sonografia, alta pressão hidrostática, alta luz pulsada e muitos outros métodos estão sendo desenvolvidos. Essas tecnologias emergentes mantêm a maior parte dos atributos dos produtos frescos, preservam os antioxidantes, aumenta a estabilidade de armazenamento e, sobretudo, a segurança alimentar das frutas e dos vegetais (Alothman *et al.*, 2010).

Com o crescente interesse por novas tecnologias, a fim de melhorar a exportação e consumo interno de frutas, vem se intensificando a hipótese de que o ozônio pode ser um melhor agente higienizador do que o cloro. Existem aplicações do ozônio na indústria que proporcionam a higienização da superfície dos alimentos, o saneamento de equipamentos e a reutilização de águas residuais, diminuindo a demanda biológica do oxigênio (DBO) e a demanda química do oxigênio (DQO) (Guzel-Seydim *et al.*, 2003). Essa multifuncionalidade do ozônio faz deste um agente promissor na indústria de alimentos. Estudos têm demonstrado que o ozônio é um poderoso antimicrobiano e pode ter muitas vantagens para a indústria de frutas, aumentando a vida de prateleira (Rawson *et al.*, 2011).

A possibilidade de usar o ozônio como uma alternativa tecnológica na indústria de produtos frescos foi concebida para substituir os

desinfetantes como o cloro. Várias reuniões sobre este tema foram patrocinadas pelo Instituto de Pesquisa em Energia Elétrica (EPRI), entre elas, a "Conferência sobre Ozônio para Processamento de Frutas e Legumes Frescos", em abril de 1998 e o "Workshop sobre Ozônio", em maio de 1998. Em 2001, a Food and Drug Administration dos EUA aprovou o uso de ozônio como agente antimicrobiano no tratamento, armazenamento e processamento de carnes e produtos hortícolas (Allothman *et al*, 2010).

A pitaia pertence a família *Cactaceae* e seu gênero *Hylocereus*, é um fruto não-climático, com escalas verdes na casca rosada-vermelha. A polpa é delicada, suculenta e é intercalada com numerosas e pequenas sementes. Nos últimos anos, a pitaia tem atraído mais atenção em todo o mundo, não só devido as suas propriedades sensoriais e importância econômica, mas também pela sua elevada atividade antioxidante devido ao seu alto conteúdo de compostos fenólicos (Li *et al.*, 2017).

A planta que produz a pitaia é uma cactácea originada na América do Sul, mas que, na última década, se popularizou em outros continentes. Com sabor peculiar e adocicado, o fruto é rico em vitaminas e a polpa tem alta concentração de fibras, com excelentes qualidades digestivas e de baixo teor calórico, além de muitas sementes com ação laxante (Rodrigues, 2010).

No Brasil, o cultivo da pitaia teve início na década de 90, tendo sua produção concentrada no Estado de São Paulo, principalmente na região de Catanduva (Senar, 2017).

O fruto pitaia apresenta também propriedades medicinais, como melhora de gastrites, prevenção contra o câncer de cólon, diabetes, neutralização de substâncias tóxicas como metais pesados, redução dos níveis de colesterol, pressão

alta, além dos cladódios e das flores serem utilizados contra problemas renais (Rossetti, 2013).

Considerando que a pitaia é uma fruta com grande potencial, a elaboração desta fruta na forma minimamente processada, com o uso do ozônio como sanitizante, mostra-se como uma alternativa interessante já que existem poucos estudos com a fruta, principalmente utilizando este método de sanitização. Assim, esta dissertação foi subdividida em dois estudos. O primeiro teve por objetivo avaliar a influência das variáveis independentes (diâmetro do fruto, concentração e tempo de contato com ozônio) sobre as respostas (compostos fenólicos, atividade antioxidante e antocianinas totais) utilizando o delineamento experimental Box Behnken. A condição otimizada, ou seja, a combinação que apresentou maior rendimento na extração dos compostos fenólicos, antioxidantes e antocianinas foi utilizada no segundo estudo, que teve por objetivo, estimar a vida de prateleira de cortes da fruta fresca ozonizada (condição otimizada), *in natura* (controle) e sanitizada com cloro, por meio de análises microbiológicas e físico-químicas.

REFERÊNCIAS

Abadias, M., Alegre, I., Usall, J., Torres, R., & Vinas, I. Evaluation of alternative sanitizers to chlorine disinfection for reducing foodborne pathogens in freshcut apple. **Postharvest Biology and Technology**, v. 59, p. 289-297, 2011.

Allothman, M.; Kaur, B.; Fazilah, A.; Bhat, R.; Karim, A. A. Ozone-induced changes of antioxidant capacity of fresh-cut tropical fruits. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v.11, p. 666-671, 2010.

Azarakhsh, N.; Osman, A.; Ghazali, H.M.; Tan, C.P.; Adzahan, N.M. Lemongrass essential oil incorporated into alginate-based edible coating for shelf-life extension and quality retention of fresh-cut pineapple. **Postharvest Biology and Technology**, v. 88, p. 1-7, 2014.

Dilmaçünala, T.; Erbaşa, D.; Koyuncua, M.A; Onursalb, C.E.; Kuleaşanc, H. Efficacy of some antimicrobial treatments compared to sodium hypochlorite on physical, physiological and microbial quality of fresh-cut melons (*Cucumis melo* L. var. inodorus). **LWT- Food Science and Technology**, v. 59, p. 1146-1151, 2014.

Guzel-Seydim, Z. B.; Greene, A. K.; Seydim, A. C. Use of ozone in the food industry. **LWT- Food Science and Technology**, v. 37, p. 453-460, 2004.

Li, X.; Qinghong, Q.; Gao, F.; Han, C.; Jin, P.; Zheng, Y. Effect of cutting styles on quality and antioxidant activity in fresh-cut pitaya fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 124, p. 1-7, 2017.

Manzocco, L., Pieve, S. D., Maifreni, M. Impact of UV-C light on safety and quality of fresh-cut melon. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 12, p. 13-7, 2011.

Rawson, A.; Patras A.; Tiwari, B. K.; Nuci, F.; Koutchima T.; Brunton, N. Effect of thermal and non-thermal processing Technologies on the bioactive content of exotic fruits and their products: Review of recent advances. **Food Research International**, v. 44, p. 1875-1887, 2011.

Rodrigues, L. J. *Desenvolvimento e processamento mínimo de pitaiia /nativa (Selenicereus setaceus Rizz.) do cerrado brasileiro*. 2010. 164 fs. (Dissertação de doutorado – Ciências dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras - MG,

Rossetti, N. C. S. *Cultivo da Pitaya. Casa do produtor rural*. 2013 – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”- Esalq/USP. Disponível em: <<http://www.esalq.usp.br/cprural/boapratica/mostra/91/cultivo-da-pitaya.html>>. Acesso em: 23 jul. 2017.

Senar, Serviço Nacional de Aprendizagem Rural. *Produtores realizam encontro sobre a produção de pitaya*. 2017. Disponível em: <<http://www.senar.org.br/noticia/produtores-realizam-encontro-sobre-producao-de-pitaya>>. Acesso em: 23 jul. 2017.

Sipahi, R. E.; Castell-Perez, M. E.; Moreira, R. G.; Gomes, C.; Castillo, A. Improved multilayered antimicrobial alginate-based edible coating extends the shelf life of fresh-cut watermelon (*Citrullus lanatus*). **LWT-Food Science. Technology**, v. 51, p. 9-15, 2013.

Capítulo 1. Efeito da ozonização e tipo de corte da fruta nos compostos fenólicos, atividade antioxidante e antocianinas da fruta fresca pitaia (*Hylocereus polyrhizus*).

RESUMO

Nos últimos anos tem se intensificado a busca pelo consumo de alimentos mais saudáveis e funcionais, com destaque às frutas e hortaliças, as quais apresentam compostos com propriedades antioxidantes, anti-inflamatória e anticancerígena. O fruto pitaia, em especial a com polpa vermelha, destaca-se por suas propriedades sendo rica fonte de biocompostos como betacianinas e polifenóis, que apresentam efeitos benéficos a saúde humana. A busca por produtos minimamente processados tem aumentado, devido ao consumo ser mais rápido e prático. A aplicação de ozônio nos cortes de fruta, tem por objetivo promover um tratamento antimicrobiano, aumentando a vida de prateleira do produto. Assim, este estudo teve por objetivo avaliar o efeito do tipo de corte da fruta fresca, bem como a influência de diferentes tempos e concentrações de ozônio, nas quantificações de compostos fenólicos, capacidade antioxidante e antocianinas totais da fruta pitaia minimamente processada. Para tanto, foi utilizado um delineamento experimental do tipo Box Behnken, buscando otimizar a melhor faixa das variáveis independentes sobre as respostas. Através deste delineamento experimental foi possível concluir que os experimentos utilizando as variáveis apresentaram maiores resultados quando comparados com o experimento sem tratamento. Dentre as variáveis estudadas, o tempo de ozonização apresentou a maior influência sobre os compostos fenólicos, capacidade antioxidante e antocianinas totais. A melhor condição para ozonização de pitaia minimamente processada foi quando esta foi cortada em cortes com 4 cm e submetida à 14 mg / minuto de ozônio durante 20 minutos de tratamento, obtendo os maiores resultados de capacidade antioxidante por ABTS (89,86 μ M trolox / g), capacidade antioxidante por DPPH (121,18 μ M trolox / g), compostos fenólicos (605,68 mg equivalentes de ácido gálico / 100g) e antocianinas totais (3036,73 mg de cianidina-3-glicosídeo / 100 g), com valor de desejabilidade da máxima dos parâmetros preditos de 0,982.

Palavras-chave: Pitaia, *Hylocereus polyrhizus*, Box Benhken, Ozônio, Compostos fenólicos totais, Capacidade antioxidante, Antocianinas.

ABSTRACT

In recent years the search for consumption of healthier and more functional foods has been intensifying, with emphasis on fruits and vegetables, which present compounds with antioxidant, anti-inflammatory and anticancer properties. The pitaya fruit, especially the one with red pulp, stands out for its properties being rich source of biocomposites like betacyanins and polyphenols that present beneficial effects to human health. The search for minimally processed products has increased because consumption is faster and more practical. The application of ozone in fruit cuts aims to promote an antimicrobial treatment, increasing the shelf life of the product. The objective of this study was to evaluate the effect of the cut type of the fresh fruit, as well as the influence of different times and concentrations of ozone, on the quantifications of phenolic compounds, antioxidant capacity and total anthocyanins of the minimally processed pitaya fruit. For this, an experimental design of the Box Behnken type was used, seeking to optimize the best range of independent variables on the responses. Through this experimental design it was possible to conclude that the experiments using the variables presented higher results when compared with the experiment without treatment. Among the variables studied, ozonization time had the greatest influence on phenolic compounds, antioxidant capacity and total anthocyanins. The best condition for ozonization of minimally processed pitaya was when it was cut in 4 cm sections and submitted to 14 mg / min of ozone during 20 minutes of treatment, obtaining the highest results of antioxidant capacity by ABTS (89.86 μM trolox / g), antioxidant capacity by DPPH (121.18 μM trolox / g), phenolic compounds (605.68 mg gallic acid equivalent / 100 g) and total anthocyanins (3036.73 mg / 100 g) with maximum desirability value of the predicted parameters of 0.982.

Keywords: Pitaya, *Hylocereus polyrhizus*., Box Benhken, Ozone, Phenolic compounds, Antioxidant capacity, Anthocyanins.

1 Introdução

O fruto pitaia, pertencente ao gênero *Hylocereus*, é uma fruta não climatérica da espécie dos cactos e se distribui desde a costa da Florida até o Brasil. Com base na cor da polpa, o pitaia é classificada em três tipos: brancas, amarelas e vermelhas (Menezes et al., 2015).

Entre os três tipos de pitaia, a vermelha (*H. polyrhizus*) (Figura 1) vem recebendo atenção em todo o mundo, devido as suas características sensoriais atraentes, grandes quantidades de compostos benéficas à saúde, como por exemplo, betacianinas, polifenóis, fibras, estas com propriedades prebióticas, e minerais, bem como alta importância econômica. Devido ao grande tamanho da fruta pitaia, a demanda pelo produto de corte fresco está aumentando continuamente (Li et al, 2017b).



Figura 1 – Plantação e corte da pitaia (*H. polyrhizus*) (In: Braga, 2017)

O corte é um procedimento que divide os produtos intactos em pedaços menores de frutas e legumes frescos. Dois tipos de respostas ao metabolismo do fruto são desencadeadas quando ocorre um corte. Em primeiro lugar, a ruptura da membrana plasmática induz os sistemas enzimáticos oxidativos a reagir com os compostos

fenólicos existentes, causando a oxidação de fenóis e o escurecimento dos tecidos, que é adverso à manutenção da qualidade do produto. Em segundo lugar, quando o estresse de ferimento ocorre, são produzidos sinais de indução à produção de mais metabólitos secundários, incluindo antioxidantes para a defesa aos danos (Li *et al.*, 2017a).

Muitos estudos relataram aumentos significativos no conteúdo de compostos fenólicos e atividade antioxidante após a etapa de corte no processamento de várias frutas e legumes frescos, podendo melhorar o valor funcional desses produtos frescos, incluindo brócolis (Martinez-Hernandez *et al.*, 2013), cenoura (Han *et al.*, 2017), alface (Zhan *et al.*, 2012), mangas (Robles-Sanchez *et al.*, 2013), mamão papaia (Yeoh; Alia; Forney, 2014), goiaba, abacaxi (Alothman *et al.* 2010) e a pitaia branca da espécie *H.undatus* (Li *et al.*, 2017).

Várias tecnologias e abordagens, incluindo atmosfera modificada (MA), armazenamento e embalagem, refrigeração, aditivos antioxidantes, agentes antimicrobianos, revestimentos comestíveis e óleos essenciais estão sendo pesquisados quanto aos seus efeitos na qualidade e vida de prateleira de frutas e hortaliças (Fan *et al.*, 2017).

Dentre as tecnologias utilizadas, destaca-se o ozônio que é conhecido por ser uma alternativa de sanitizante para frutas frescas e vegetais, pois pode decompor o etileno e destruir microorganismos por oxidação progressiva do fosfolípido e de moléculas de proteína na membrana celular, que são vitais para o funcionamento da membrana. O ozônio pode induzir também a resistência de plantas a agentes patogênicos em concentrações apropriadas (Han *et al.*, 2017).

Quimicamente o ozônio pode ser gerado pela excitação do oxigênio molecular a oxigênio atômico em um ambiente energizado que permite a recombinação de átomos (Santos e Roza, 2010). Apresenta-se na forma triatômica do oxigênio (O_3), forma alotrópica do oxigênio, sendo um gás extremamente instável e parcialmente solúvel em água. Destaca-se pelo elevado potencial de oxidação, em relação a outros agentes oxidantes, perdendo apenas para o flúor (Silva *et al.*, 2011).

As vantagens de utilizar um ozonizador alimentado com oxigênio estão relacionadas ao menor custo de manutenção, devido à maior simplicidade do equipamento e maior rendimento no processo de transformação de oxigênio em ozônio. Porém, a desvantagem está no alto custo do oxigênio (Silva *et al.*, 2011).

O ozônio apresenta alta reatividade e permeabilidade, sem efeito adverso sobre a qualidade do produto, se usado na concentração adequada, não deixando resíduos químicos após o tratamento (Glowacz e Rees, 2016). Além de ser gerado somente quando aplicado sobre o produto, dispensando a condição de armazenamento para uso posterior, também apresenta uma significativa vantagem de ser uma tecnologia de menor impacto ao meio ambiente, reduzindo os gastos ambientais da empresa que o utiliza, facilitando assim o seu cumprimento para com as obrigações legais (Santos e Roza, 2010).

O uso de ozônio pode contribuir no processo industrial na economia de água em comparação a outros biocidas por ter uma ação mais rápida, não deixar resíduo e não requer um enxágue final para remover qualquer desinfetante residual que possa ter permanecido no meio tratado. Além disso, proporciona economia de energia devido ser normalmente empregado à baixas temperaturas (Silva *et al.*, 2011).

Na década de 90, os Estados Unidos consolidou o ozônio como uma substância GRAS (geralmente reconhecido como seguro) para aplicação direta em produtos alimentícios.

Sendo assim, há um grande interesse no uso do ozônio como um sanitizante nas superfícies de alimentos, a fim de aumentar a vida de prateleira de frutas e legumes (Han *et al.*, 2017). Há vários estudos onde foram aplicados ozônio como sanitizante em frutas e hortaliças frescas, como os realizados em mamão papaia (Yeoh, Ali e Forney, 2014), alface (Ölmez e Akbas, 2009), pimentão verde (Alexopoulos *et al.*, 2013), goiaba, abacaxi (Allothman *et al.*, 2010) e amora (Han *et al.*, 2017). Nestes estudos, foram variadas as concentrações e o tempo de contato do ozônio. Estes estudos mostram o grande interesse no uso do ozônio como um sanitizante aos alimentos a fim de aumentar a vida de prateleira de frutas e hortaliças (Han *et al.*, 2017).

Ao longo dos últimos anos, um número crescente de estudos mostraram que o consumo de frutas e vegetais frescos pode proteger contra algumas doenças crônicas causadas pelo estresse oxidativo, como distúrbios cardiovasculares e diferentes tipos de câncer, atuando também como agentes anti-inflamatórios (Wu *et al.*, 2006). Isso se deve, principalmente, aos seus componentes antioxidantes, especialmente vitamina C, carotenoides, compostos fenólicos, flavonóides, taninos e antocianinas, que são conhecidos por possuírem a capacidade de capturar radicais livres e inibir a peroxidação. Além disso, compostos fenólicos também são relacionados a efeitos antimicrobianos (Tenore, Novellino e Basile, 2012).

Como apresentado acima, um fator importante em algumas frutas é o seu poder antioxidante, caracterizado pela presença de componentes funcionais. São

compostos químicos com capacidade de interagir com os radicais livres, podendo restringir seus efeitos maléficos ao organismo (Couto e Canniatti-Brazaca, 2010). Os mecanismos de ação dos antioxidantes incluem prevenção da formação de radicais livres, impedimento da ação destes radicais e reconstituição das estruturas biológicas lesadas (Rocha *et al.*, 2013). Dentre esses compostos destacam-se os fenóis que possuem propriedades de reduzir o nível de estresse oxidativo. Estes estão entre os antioxidantes mais ativos e frequentemente presentes em vegetais. Existem mais de 8.000 compostos fenólicos no reino vegetal, com destaque para os flavonoides (Silva, 2010). Dentre os flavonoides, encontram-se as antocianinas que se caracterizam como sendo o maior grupo de pigmentos solúveis em água do reino vegetal (Damodaran, Parkin e Fennema, 2010). O termo antocianina é de origem grega, derivada de duas palavras: *anthos* (uma flor) e *kyanos* (azul escuro).

A cor das antocianinas é exibida por meio da ressonância do íon flavílio, que gera a intensidade da cor, em que as duplas ligações conjugadas presentes nesses compostos fazem com que absorvam fortemente na região de 500-600 nm (Ferreira, 2013). Em suas estruturas possuem um grupo hidroxila nas posições 3, 5 e 7, sendo que uma ou mais destas hidroxilas estão ligadas a açúcares (Figura 2), que conferem maior solubilidade e estabilidade a estas substâncias, além de terem efeitos determinantes nos processos de absorção e excreção das antocianinas em ratos e seres humanos (Favaro, 2008).

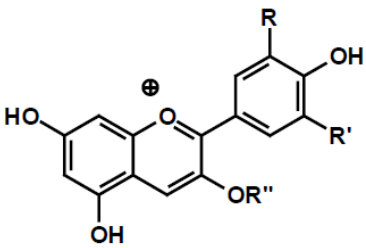
	Antocianina	Grupo R	Grupo R'	Grupo R''
	Cianidina 3-glicosídeo	OH	H	glicose
	Cianidina 3-galactosídeo	OH	H	galactose
	Cianidina 3-rutinosídeo	OH	H	rutinose
	Delfinidina 3-glicosídeo	OH	OH	glicose
	Pelargonidina 3-glicosídeo	H	H	glicose
	Malvidina 3-glicosídeo	OCH ₃	OCH ₃	glicose
	Peonidina 3-glicosídeo	OCH ₃	H	glicose

Figura 2 – Estruturas das antocianinas (In: Favaro, 2008, p.9).

As antocianinas são pigmentos hidrossolúveis e, quando adicionadas a alimentos, conferem coloração oscilando entre vermelho, laranja e roxo, de acordo com condições intrínsecas do meio, como o pH, temperatura e presença de oxigênio (Brilhante *et al.*, 2013).

Assim, este trabalho teve por objetivo verificar a influência do tipo de corte da fruta, da concentração do gás ozônio e do tempo de aplicação da ozonização nos conteúdos de compostos fenólicos totais, antocianinas e atividade antioxidante da pitaia minimamente processada, através do delineamento experimental Box Behnken, e assim obter uma melhor faixa das variáveis independentes, estimando um melhor rendimento sobre os valores das respostas.

2 Materiais e Métodos

2.1 Reagentes químicos

Os reagentes 2,2-azino-bis-3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico (ABTS); 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxico (Trolox); 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH); e reagente de Folin-Ciocalteu foram adquiridos da Sigma Chemical Brasil. O ácido gálico e o Cloreto de Alumínio foram obtidos da Synth, Brasil. O etanol PA (99,9%) utilizado foi da marca Vetec-Sigma Chemical Brasil.

2.2 Coleta das frutas e preparo das amostras

Os frutos pitiaia, do gênero *Hylocereus polyrhizus*, foram adquiridos em maio de 2017, para realização do delineamento experimental; e em dezembro de 2017, para validação do delineamento. Foram comprados no comércio de Assis-SP e também na cidade de São Paulo-SP, ambos originados do CEAGESP, de São Paulo-SP. A escolha desse gênero para este estudo foi devido à sua disponibilidade no estado de São Paulo-SP e também aos poucos estudos com esse fruto.

No momento da aquisição dos frutos, levou-se em consideração o estágio de maturação e ausência de injúrias. Os frutos foram lavados em água corrente e, em seguida, armazenados em refrigeração.

O processo de ozonização e a caracterização dos biocompostos do material após ozonização foram realizados no Laboratório de Engenharia de Bioprocessos da Universidade Estadual Paulista (UNESP) FCL-Assis.

2.3 Aplicação de ozônio

Existem vários métodos para produção de ozônio, sendo que a forma utilizada comercialmente é o processo de descarga elétrica, conhecido como “corona”. Este é constituído por dois eletrodos submetidos a uma elevada diferença de potencial (aproximadamente 1000 V), onde o ozônio é gerado através da passagem de ar ou oxigênio puro entre os dois eletrodos. Quando os elétrons possuem energia suficiente para dissociar a molécula de oxigênio, começam a ocorrer colisões, que causam a dissociação do oxigênio e a consequente formação do ozônio (Silva *et al.*, 2011).

A Figura 3 apresenta o processo corona utilizado para a aplicação de ozônio na fruta. Para tanto foi construído um sistema que consiste em um cilindro de gás

oxigênio comprimido, ligado a uma válvula reguladora de fluxo de gás, onde o oxigênio de forma controlada entra em um aparelho ozonizador (GOB-Gerador de ozônio de bancada, marca Ozôniobras), convertendo-se em ozônio. Este ozônio produzido é injetado em uma câmara especialmente desenvolvida de forma que permita que o gás ozônio entre em contato com toda a superfície dos pedaços de fruta de maneira uniforme. O gás excedente da câmara passa por um filtro de carvão ativado sendo, em seguida, borbulhado em solução de iodeto de potássio, neutralizando assim o ozônio restante. Todo o sistema foi montado e manuseado dentro da capela de laboratório.

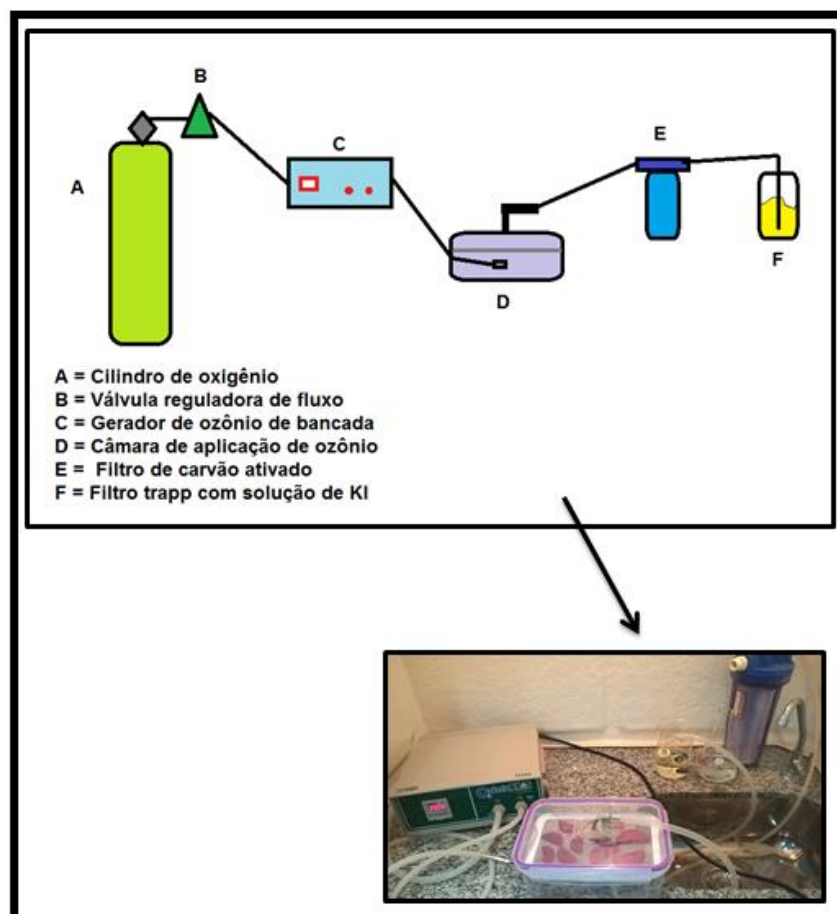


Figura 3 – Sistema de aplicação de ozônio no corte da fruta fresca pitaia.

A câmara de aplicação de ozônio projetada consiste de um recipiente de plástico de formato retangular de dimensões 25x15x10 cm, no qual há uma tubulação para

entrada do ozônio e um dissipador na extremidade, a fim de que o gás seja disperso em todo o recipiente. As frutas foram colocadas sobre uma tela perfurada de inox, posicionada acima do dissipador. A tampa do recipiente permitia fechamento hermético e continha uma saída para o gás excedente (Figura 4).

Foram colocados aproximadamente 30 g de fruta em semicircunferência, com diâmetros que variaram de 4 cm a 6 cm, conforme delineamento experimental (Tabela 1).

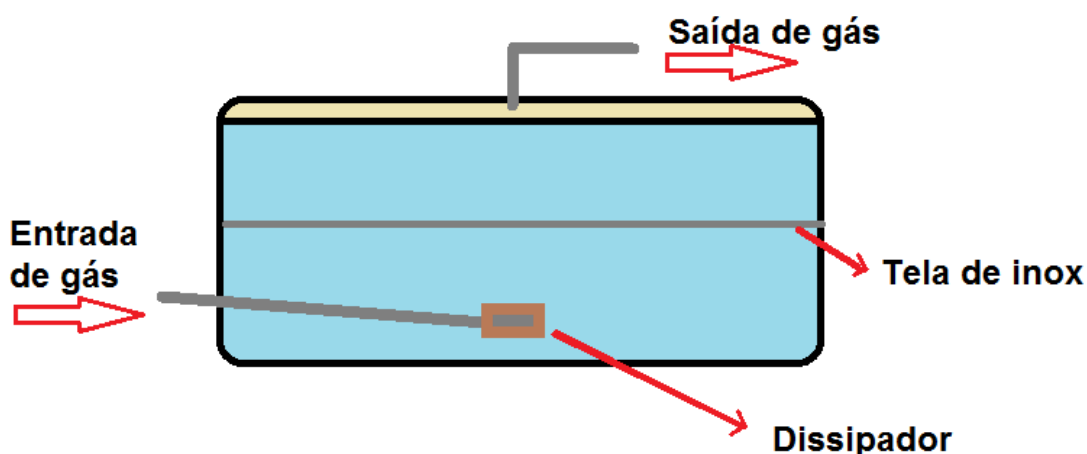


Figura 4 – Câmara de aplicação de ozônio nos cortes de fruta.

A determinação da concentração do ozônio foi estimada por titulação da solução de iodeto de potássio, segundo Magri (2016). A diferença entre o fluxo de gás de entrada e o fluxo de gás de saída da câmara de aplicação do ozônio foi borbulhado em erlenmeyers (A e B) contendo solução de 200 mL de iodeto de potássio 2%. A cada 10 minutos de ozonização utilizava-se outra solução de iodeto de potássio, devido a mudança na coloração à saturação de ozônio na solução. Em seguida, foi adicionado a essas soluções 10 mL de ácido sulfúrico 2N e titulou-se com solução padronizada de tiosulfato de sódio até a mudança de a coloração amarelada desaparecer.

Desta forma determinou-se a concentração de ozônio através da equação 1:

$$\text{Concentração de Ozônio} = (A+B) \times N \times 24 / T \text{ (Eq. 1)}$$

A = mL de solução padronizada de tiosulfato de sódio gasto no erlenmeyer A;

B = mL de solução padronizada de tiosulfato de sódio gasto no erlenmeyer B;

N = normalidade do tiosulfato de potássio (corrigida);

T = tempo de ozonização, em minutos.

2.4 Obtenção dos extratos de pitaia

Os extratos foram preparados de acordo com BARRETO et al. (2009), com algumas modificações. As frutas pitaia foram descascadas e cortadas, sendo que o corte foi efetuado manualmente em cubos na geometria de semicírculo (Figura 5), com espessura de 0,5 cm e diâmetro variando entre 4 a 6 cm (Tabela 1). Após o processo de ozonização, 10 g da fruta foram adicionadas em 40 mL de solução etanólica (40%), triturada em um mixer e mantida sob agitação em uma mesa agitadora (marca Tecnal TE-141) a 600 rpm durante 60 minutos. Em seguida, a solução foi filtrada a vácuo e o material retido no filtro foi rinsado para se obter um melhor arraste dos compostos, para isso foram utilizados 60 mL de solvente. O extrato filtrado obtido foi transferido para um balão de 100 mL, completado o volume com a solução etanólica 40% e armazenado em frasco ao abrigo de luz sob refrigeração. A partir destes extratos, foram realizadas as análises de compostos fenólicos, atividade antioxidante e antocianinas.

O delineamento experimental Box Behnken consistiu de 15 experimentos. Assim, foram preparados 15 (quinze) extratos, em duplicata, para posterior quantificação dos biocompostos.

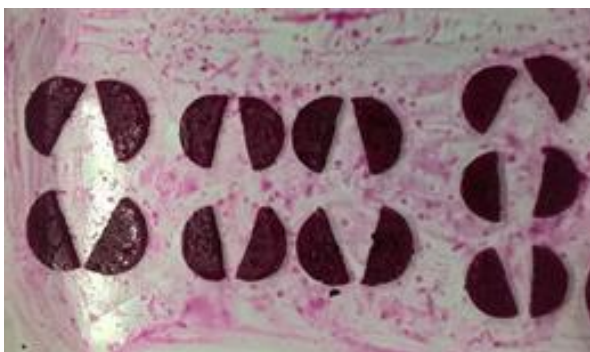


Figura 5 – Semicircunferências de corte do fruto pitaia.

2.5 Compostos Fenólicos Totais

A quantificação de compostos fenólicos totais (CFT) foi realizada, em triplicata, utilizando ensaios colorimétricos, segundo Singleton e Rossi (1965). O método baseia-se na reação entre compostos fenólicos presentes na amostra com carbonato de sódio, formando fenolatos os quais são capazes de reduzir a mistura do reagente de Folin-Ciocalteu, e a absorbância medida a 765 nm em espectrofotômetro (marca Biospectro Sp220). O teor de compostos fenólicos totais foi determinado por meio da interpolação entre as absorbâncias das amostras e uma curva padrão preparada com ácido gálico. Os resultados foram expressos em mg de equivalentes de ácido gálico (EAG) por 100 g de fruto seco.

2.6. Atividade Antioxidante

2.6.1 ABTS

A atividade antioxidante (A.A.) dos extratos foi avaliada pelo ensaio de ABTS, segundo Rufino *et al.* (2007). Trinta microlitros (30 μ L) de amostra, em diluições diferentes e em triplicata, foram transferidos para tubos de ensaio e misturados com 3 mL de solução de radical ABTS, previamente preparado com persulfato de potássio. A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro (marca Biospectro, modelo Sp220) a 734 nm, após 6 minutos de reação da mistura como descrito na metodologia. Resultados foram interpolados com uma curva padrão preparada com Trolox e expressos em μ M de Capacidade Antioxidante Equivalente a Trolox por g de fruto seco.

2.6.2 DPPH

Realizou-se a quantificação de atividade antioxidante dos extratos pelo ensaio de DPPH, segundo Mensor *et al.* (2001). Cem microlitros (100 μ L) de amostra, em triplicata, foram transferidos para tubos de ensaio, misturados com 3,9 mL de solução etanólica de radical DPPH e feita a leitura, após 30 minutos, em espectrofotômetro (marca Biospectro, modelo Sp220) a 515 nm. Resultados foram interpolados com uma curva padrão preparada com Trolox e expressos em μ M de Capacidade Antioxidante Equivalente a Trolox por g de fruto seco.

2.7 Antocianinas

A determinação de antocianinas foi realizada segundo o método de Fuleki e Francis (1968a, 1968b) com algumas modificações. A partir dos extratos obtidos já descritos anteriormente, realizou-se a quantificação de antocianinas e leitura da

absorbância em espectrofotômetro (marca Biospectro, modelo Sp220) a 535 nm, utilizando como branco a solução de etanol 40%. Os resultados foram expressos em mg de cianidina-3-glicosídeo por 100 g de fruto seco.

2.8 Design experimental

Utilizou-se um delineamento experimental Box Behnken (BBD), a fim de investigar o efeito de 3 variáveis independentes (diâmetro, concentração de ozônio e tempo de contato com o ozônio) sobre o rendimento da extração no teor de compostos fenólicos, atividade antioxidante (ABTS e DPPH) e antocianinas, a fim de avaliar e otimizar as variáveis independentes nos teores de biocompostos da fruta fresca pitaia (Tabela 1). O delineamento totalizou 15 experimentos, atendendo à definição do planejamento, tendo três replicatas para o ponto central. As variáveis independentes foram analisadas em 3 níveis de variação, definidos a partir de estudos prévios já mencionados, sendo o diâmetro (X_1) do corte do fruto de 4 , 5 e 6 cm; concentração (X_2) de ozônio de 3, 7 e 14 mg / minuto; e tempo (X_3) de contato do ozônio com o fruto de 10, 15 e 20 minutos, resultando em quinze diferentes extratos, em duplicata.

No ajuste dos valores de resposta de cada parâmetro experimental foi utilizado o modelo polinomial quadrático (Eq. 2). A significância estatística das equações foi obtida através da análise de variância (ANOVA), no nível de confiança de 95%. O teste estatístico F foi usado para avaliar se o modelo de regressão foi adequado para descrever os dados observados, utilizado o software DX Expert versão 6 (Stat-Ease Inc. Minneapolis – Mn, USA).

$$Y = \beta_0 + \sum \beta_a X_a + \sum \beta_{aa} X_a^2 + \sum \beta_{ab} X_a X_b \quad (\text{Eq. 2})$$

Onde Y é a estimativa da resposta; β_0 , é o coeficiente de regressão do modelo (intercepção); β_a , β_{aa} , β_{ab} são os coeficientes linear, quadrático e de interação do modelo, respectivamente; e X_a , X_b são as variáveis independentes da equação.

À partir dos resultados de otimização obtidos pelas superfícies de respostas e equações do modelo, assim como da função desejabilidade, foi realizada a validação dos resultados do processamento da pitaia minimamente processada e ozonizada. Desejabilidade foi utilizada para determinar a condição mais desejável para o tratamento otimizado, o qual foi submetido o fruto pitaia. Quanto maior o parâmetro de desejabilidade, mais adequada é a resposta do delineamento, ou seja, quanto mais próximo do valor máximo (1), maior é a condição otimizada do sistema. O valor de desejabilidade é dado dentro de uma faixa aceitável ($0 \leq d \leq 1$), sendo que o valor 0 corresponde a menores atividade antioxidante, compostos fenólicos e antocianinas, enquanto que 1 corresponde ao valor máximo para tais respostas.

2.9 Análise Estatística

As determinações analíticas dos biocompostos, para cada tratamento, foram expressas como a média $\pm$ do desvio padrão das duas repetições de extração, sendo que em cada uma foi feita em triplicata. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey através da análise de variância (ANOVA). A significância estatística foi estabelecida em $p < 0,05$.

3 Resultados e Discussão

A Tabela 1 apresenta o delineamento experimental Box Behnken com os valores de respostas de atividade antioxidante (ABTS e DPPH), bem como os resultados de compostos fenólicos e antocianinas, indicando que os diferentes tratamentos influenciaram no valor da extração dos compostos.

Tabela 1 – Variáveis independentes com as respectivas respostas obtidas do delineamento experimental (BBD)

Tratamentos	Diâmetro (cm)	X ₁	Concentração de O ₃ (mg / min.)	X ₂	Tempo (min.)	X ₃	A.A – ABTS (µM trolox / g b.s.)	A.A – DPPH (µM trolox / g b.s.)	CFT (mg EAG / 100 g b.s.)	Antocianinas mg de cianidina-3-glicosídeo / 100 g b.s.
1	4	-1	3	-1	15	0	29,70 ± 0,04	114,59 ± 0,01	145,28 ± 2,09	1672,80 ± 7,92
2	5	0	7	0	15	0	25,20 ± 0,02	117,49 ± 0,01	222,07 ± 4,56	564,73 ± 4,32
3	4	-1	7	0	20	1	95,19 ± 0,07	121,18 ± 0,02	556,26 ± 5,77	2870,72 ± 6,48
4	4	-1	7	0	10	-1	36,16 ± 0,02	114,47 ± 0,01	239,39 ± 2,93	851,37 ± 3,60
5	5	0	7	0	15	0	18,51 ± 0,02	118,31 ± 0,003	169,24 ± 2,51	355,10 ± 6,48
6	4	-1	14	1	15	0	32,30 ± 0,03	115,37 ± 0,003	292,07 ± 2,45	1167,97 ± 5,04
7	5	0	3	-1	10	-1	29,52 ± 0,04	118,47 ± 0,002	262,50 ± 3,18	872,77 ± 7,20
8	6	1	3	-1	15	0	20,51 ± 0,02	114,86 ± 0,005	320,46 ± 4,33	1476,00 ± 7,92
9	6	1	7	0	20	1	95,00 ± 0,05	120,91 ± 0,006	519,12 ± 1,14	2079,24 ± 5,76
10	5	0	14	1	10	-1	20,09 ± 0,01	115,90 ± 0,02	287,87 ± 2,66	821,43 ± 8,64
11	5	0	3	-1	20	1	67,87 ± 0,05	120,84 ± 0,01	605,65 ± 3,55	3016,18 ± 5,04
12	6	1	7	0	10	-1	31,18 ± 0,02	113,30 ± 0,004	241,28 ± 3,89	868,49 ± 5,04
13	5	0	7	0	15	0	25,67 ± 0,01	117,32 ± 0,001	217,25 ± 2,44	376,49 ± 2,88
14	6	1	14	1	15	0	30,58 ± 0,04	118,37 ± 0,006	318,93 ± 3,06	842,82 ± 7,92
15	5	0	14	1	20	1	79,76 ± 0,06	121,01 ± 0,01	591,43 ± 1,95	2956,28 ± 5,04

A.A: atividade antioxidante, CFT: compostos fenólicos totais, b.s: base seca, EAG: equivalentes a ácido gálico, ±: Desvio padrão

3.1 Desenvolvimento do modelo e otimização das variáveis experimentais

Modelos empíricos foram desenvolvidos para predição da atividade antioxidante (ABTS e DPPH), compostos fenólicos e antocianinas totais (Tabela 2).

Tabela 2 – Variáveis das equações do modelo experimental.

	A.A. – ABTS (μ M Trolox/g bs)	A.A – DPPH (μ M Trolox/g bs)	CFT (mg EAG/100g b.s.)	Antocianinas totais (mg de cinanidina-3- glicosídeo/100g b.s.)
Intercepção	23,13	117,49	202,85	432,10
A	-2,01	0,23	20,85	-162,04
B	1,89	0,24	19,55	-156,16
C	27,61*	2,72*	155,18*	938,54*
A ²	10,11*		9,24	304,29
B ²	-4,96		57,09	553,50*
C ²	31,15*		176,92*	931,06*
A*B	1,87		-37,08	-32,09
A*C	1,19		-9,76	-202,15
B*C	5,33		-9,90	-2,14

* Coeficientes da equação significativos a $p < 0,05$

A: diâmetro; B: concentração; C: tempo; A.A.: atividade antioxidante, CFT: compostos fenólicos totais.

A análise de variância (ANOVA) foi calculada e usada para verificar a adequação e o ajuste do modelo quadrático aos dados experimentais (Tabela 3).

O alto valor de $F = 45,38$ e o baixo valor de $p\text{-valor} = 0,0003$ indicam que o modelo quadrático é altamente significativo e adequado para a resposta de A.A. –

ABTS. Para A.A. – DPPH, compostos fenólicos e antocianinas, o modelo foi significativo e o teste de falta de ajuste apresentou valores insignificativos ($p < 0,05$).

Portanto, verifica-se que a equação quadrática representou satisfatoriamente os valores para compostos fenólicos totais, atividade antioxidante e antocianinas totais, confirmando através da significância do modelo. Os valores de R^2 (Tabela 3) indicou uma adequada correlação entre os valores experimentais e preditos.

Tabela 3 – Análise de variância ANOVA

	Coefficiente estimado	Soma dos Quadrados	df	Valor Eficaz	Valor F	p-valor Prob > F
A.A. – ABTS						
Modelo		10328,49	9	1147,61	45,38	0,0003
A-Diâmetro	-2,01	32,37	1	32,37	1,28	0,3092
B-Concentração	1,89	28,60	1	28,60	1,13	0,3362
C-Tempo	27,61	6097,97	1	6097,97	241,12	< 0,0001
A ²	10,11	377,23	1	377,23	14,96	0,0119
B ²	-4,96	90,90	1	90,90	3,59	0,1165
C ²	31,15	3581,91	1	3581,91	141,63	< 0,0001
AB	1,87	13,92	1	13,92	0,55	0,4915
AC	1,19	5,71	1	5,71	0,23	0,6546
BC	5,33	113,6	1	113,6	4,49	0,0876
Residual		126,45	5	25,29		
Falta de ajuste		94,33	3	31,44	1,96	0,3557
Erro puro		32,12	2	16,06		
Cor Total		1454,94	14			
R-quadrado		0,9879	9			
A.A. – DPPH						
Modelo		83,59	7	11,94	5,01	0,0248
A-Diâmetro	0,23	0,41	1	0,41	0,17	0,6893
B-Concentração	0,24	0,44	1	0,44	0,19	0,6794
C-Tempo	2,72	59,32	1	59,32	24,89	0,0016
A ²	-1,74	11,21	1	11,21	4,70	0,0667
C ²	1,52	8,61	1	8,61	3,61	0,0992
AC	0,22	0,20	1	0,20	0,085	0,7796
BC	0,69	1,88	1	1,88	0,79	0,4041
Residual		16,69	7	2,38		
Falta de ajuste		16,13	5	3,23	11,51	0,0819
Erro puro		0,56	2	0,28		
Cor Total		100,28	14			
R-quadrado		0,6001				
Compostos Fenólicos totais						
Modelo		3.283E+5	9	36472,42	16,10	0,0035
A-Diâmetro	20,85	3478,16	1	3478,16	1,53	0,2704
B-Concentração	19,55	3058,64	1	3058,64	1,35	0,2978
C-Tempo	155,18	1.926E+5	1	1.926E+5	85,01	0,0003
A ²	9,24	315,37	1	315,37	0,14	0,7244
B ²	57,09	12034,52	1	12034,52	5,31	0,0694
C ²	176,92	1.156E+5	1	1.156E+5	51,00	0,0008
AB	-37,08	5500,44	1	5500,44	2,43	0,1800
AC	-9,76	380,86	1	380,86	0,17	0,6988
BC	-9,90	391,82	1	391,82	0,17	0,6948
Residual		11330,07	5	2266,01		
Falta de ajuste		9623,78	3	3207,93	3,76	0,1058
Erro puro		1706,29	2	853,14		
Cor Total		3.396E+5	14			
R-quadrado		0,9666				
Antocianinas totais						
Modelo		1.183E+7	9	1.314E+6	21,64	0,0017
A-Diâmetro	-162,04	2.101E+5	1	2.101E+5	3,46	0,1220
B-Concentração	-156,16	1.951E+5	1	1.951E+5	3,21	0,1331
C-Tempo	938,54	7.047E+6	1	7.047E+6	116,02	0,0001
A ²	304,29	3.419E+5	1	3.419E+5	5,63	0,0638
B ²	553,50	1.131E+6	1	1.131E+6	18,62	0,0076
C ²	931,06	3.201E+6	1	3.201E+6	52,70	0,0008
AB	-32,09	4118,30	1	4118,30	0,068	0,8049
AC	-202,15	1,635E+5	1	1,635E+5	2,69	0,1618
BC	-2,14	18,30	1	18,30	3.013E-4	0,9868
Residual		3.037E+5	5	60739,44		
Falta de ajuste		2.771E+5	3	92361,28	6,94	0,1285
Erro puro		26613,37	2	13306,69		
Cor Total		1.213E+7	14			
R-quadrado		0,9750				

As superfícies de resposta representadas pelas Figuras 6, 7, 8 e 9 ilustram a influência das variáveis independentes (diâmetro de corte do fruto, concentração de ozônio e tempo de contato com o ozônio) sobre a A.A. (ABTS e DPPH), compostos fenólicos totais e antocianinas totais, respectivamente, do fruto pitaia. Essas superfícies de respostas estão diretamente relacionadas com os parâmetros das equações do modelo quadrático do delineamento experimental Box Behnken (Tabela 2).

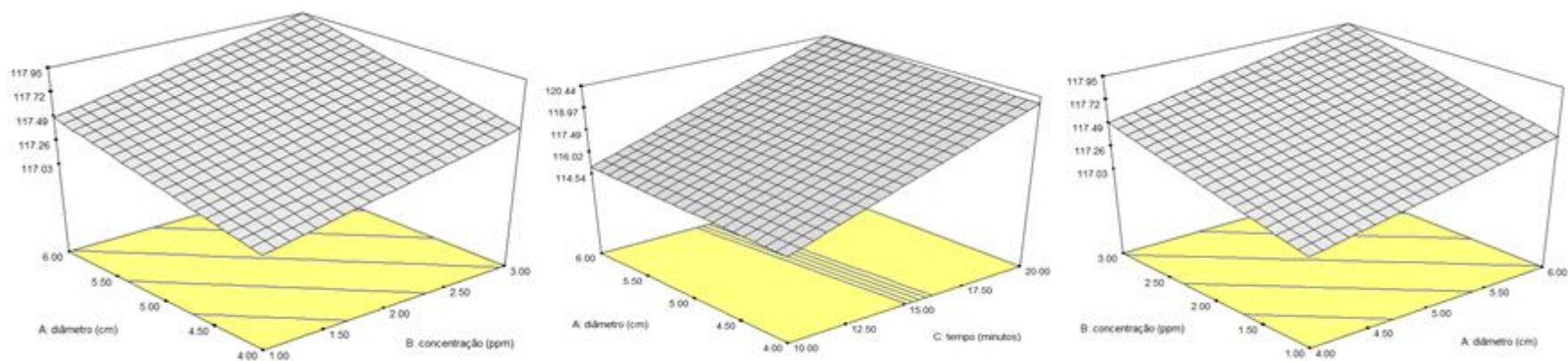


Figura 6 – Superfície de resposta da atividade antioxidante por DPPH.

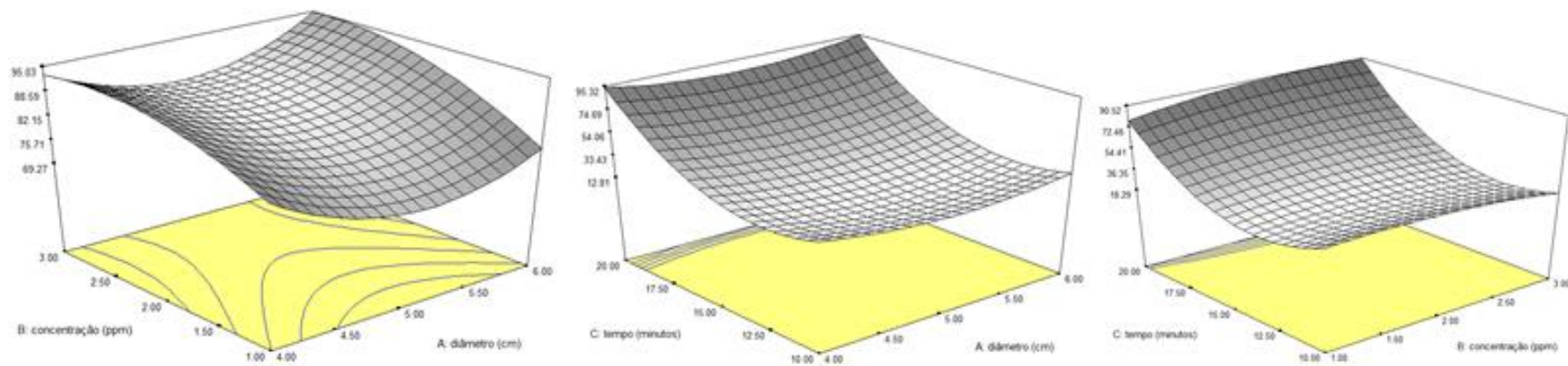


Figura 7 – Superfície de resposta da atividade antioxidante por ABTS.

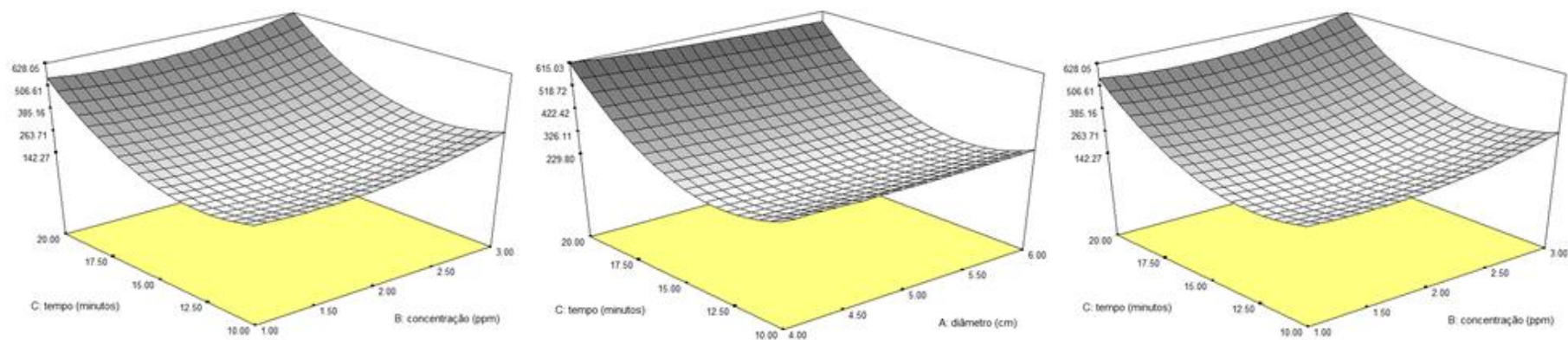


Figura 8 – Superfície de resposta de compostos fenólicos totais.

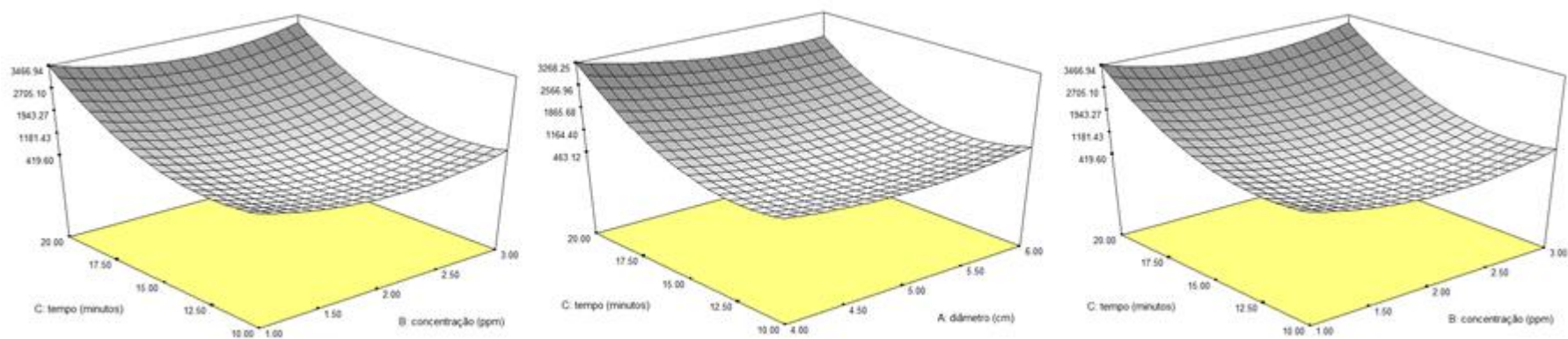


Figura 9 – Superfície de resposta de antocianinas totais.

3.2 Efeito do tipo de corte, tempo e concentração de ozônio na atividade antioxidante de pitaia ozonizada.

As atividades antioxidantes determinadas pela captura de radical por ABTS e DPPH dos extratos da fruta pitaia estão apresentadas na Tabela 1, onde é possível verificar que os maiores resultados para ABTS e DPPH foram de 95,19 μM trolox / g e de 121,18 μM trolox / g, respectivamente. Esses resultados são referentes ao experimento 3 utilizando diâmetro da fruta de 4 cm, concentração de ozônio de 7 mg / min e tempo de exposição ao ozônio de 20 min. Esses resultados foram superiores quando comparados à amostra controle (sem tratamento) que apresentou, aproximadamente, 26 e 117 μM de trolox / g para os radicais ABTS e DPPH, respectivamente. Desta forma pode perceber que as variáveis independentes do delineamento experimental influenciaram na quantificação de compostos com atividade antioxidante.

Comparando com a literatura, pode-se verificar que os resultados foram superiores aos verificados por alguns autores como Orozco *et al.* (2009), que quantificaram 11 μM de trolox / g de fruta fresca da pitaia *Stenocereus stellatus* Riccobono, Rodriguez (2010) que encontrou 11,41 μM de trolox / g, por DPPH na pitaia branca *Selenicereus setaceus* Rizz, e por Vizzotto *et al.* (2014) que obtiveram, para pitaia sem identificação das espécies, 0,4152 μM de trolox / g da fruta fresca, por DPPH.

Entre os parâmetros independentes com maior influência sobre A.A. encontra-se o tempo. Quanto maior o tempo de exposição da fruta ao ozônio maior foi a A.A., independente do radical utilizado. Esse aumento se deve também, segundo Li *et al.* (2017a) ao corte sofrido pelo fruto, que induz uma maior produção de metabólitos secundários, aumentando a A.A. Já o diâmetro e a concentração, dentro da faixa de

estudo, não demonstraram um efeito significativo no aumento da atividade antioxidante dos extratos de pitaia.

Yeoh *et al.* (2014), aplicando um delineamento experimental com diferentes tempos de contato de ozônio em mamão papaia, obtiveram a maior quantificação por DPPH da A.A no tempo de 20 minutos, cujo tempo também observado no estudo de Alothman *et al.* (2010) com banana e abacaxi. Desta forma, os resultados obtidos neste estudo foram iguais aos reportados na literatura.

O valor de A. A obtido pelo ensaio de ABTS foi menor quando comparado com DPPH, devido ao fato deste último abranger compostos que são solúveis em solventes orgânicos, enquanto que o ABTS pode medir compostos de natureza hidrofílica e lipofílica. Portanto, o DPPH foi mais seletivo em quantificar os compostos com A. A. pelo solvente orgânico etanol utilizado. Segundo Daroncho *et al.* (2012), outra diferença entre os radicais é que o $ABTS^+$ abrange máxima absorbância nos picos de 414, 654, 754 e 815 nm, enquanto a absorbância do DPPH é 515 nm. A divergência nos resultados de atividade antioxidante de equivalentes a Trolox podem também ser atribuídas a fatores limitantes como a diferença no tempo de incubação ou no preparo do radical ABTS.

Soares *et al.* (2008) também obtiveram maiores valores de atividade antioxidante de equivalentes a Trolox usando o radical DPPH do que com ABTS estudando maçã, da variedade gala.

As superfícies de resposta (Figura 6 e 7) ilustram a influência das variáveis independentes (diâmetro de corte do fruto, concentração de ozônio e tempo de contato com o ozônio) sobre a A.A. (DPPH e ABTS) da pitaia. A equação quadrática obtida através do delineamento experimental prediz o máximo de quantificação de A.A por ABTS de 93,26 μ M trolox / g, utilizando diâmetro de 4 cm, concentração de

ozônio de 14 mg / min. e tempo de ozonização de 20 minutos, com desejabilidade de 0,962. Já para o método de DPPH, o delineamento apresenta a quantificação máxima de 120,65 μ M trolox / g para um diâmetro de 6 cm, concentração de 14 mg / min. e tempo de 20 minutos, com desejabilidade da equação de 0,924.

3.3 Impacto dos resultados de compostos fenólicos e antocianinas totais em relação às variáveis independentes sobre a extração.

O valor máximo obtido para compostos fenólicos e antocianinas totais (Tabela 1) foram de 605,65 mg EAG / 100 g e 3016,18 mg de cianidina-3-glicosídeo / 100 g, respectivamente, correspondendo ao tratamento 11 (5 cm, 3 mg / min e 20 min). Os resultados desses biocompostos, em amostras sem tratamento, foram 240,99 mg de EAG / 100 g e 838,54 mg de cianidina-3-glicosídeo / 100 g de fruta *in natura*, valores esses inferiores quando comparados aos encontrados nas amostras ozonizadas. Desta forma, o processo de ozonização influenciou na extração dos compostos fenólicos e antocianinas totais das amostras.

O aumento dos conteúdos fenólicos e flavonoides das frutas podem ter sido causados pela modificação da parede celular que ocorre durante a exposição ao ozônio. Esta modificação pode ter aumentado a extração e liberado parte dos compostos fenólicos conjugados da parede celular. O aumento dos biocompostos também pode ser atribuída à reação ocorrida com a ozonização, que pode ter ativado a enzima fenilalanina amônia liase (PAL), que é uma das enzimas chave usada na síntese de compostos fenólicos no tecido da planta (Alothman *et al.*, 2010).

Alguns estudos sugerem que a hiper-reatividade do ozônio pode contribuir para a inibição de algumas enzimas tais como as polifenol oxidase e a peroxidase, que

muitas vezes são a causa da oxidação de compostos fenólicos em cortes de frutas e vegetais frescos (Yeoh *et al.*; 2014).

Dentre as variáveis independentes estudadas, o tempo de contato do ozônio com as frutas frescas foi o que mais contribuiu para o aumento da quantificação dos compostos fenólicos e antocianinas totais, sendo este comportamento ilustrado na superfície de resposta gerada pelo delineamento (Figura 8 e 9).

Yeoh *et al.* (2014) obtiveram 24,8 mg de EAG / 100 g de mamão papaia ozonizado durante 20 minutos, enquanto que Alothman *et al.* (2010) verificaram 48,91 mg EAG / 100 g de abacaxi e 85,24 mg EAG / 100 g de banana, também ozonizando a fruta pelo mesmo tempo. Bortolin *et al.* (2016) realizaram estudos com exposição de pimenta vermelha (*Capsicum baccatum*) ao ozônio e compararam com amostras sem tratamento, verificando que o ozônio contribuiu para o aumento de compostos fenólicos.

A influência da geometria dos cortes da fruta nos compostos fenólicos foi verificada por Li *et al.* (2017a), que observaram maiores teores de compostos fenólicos em pedaços de fruta cortados em quatro partes do que quando cortadas ao meio ou inteiras, sendo que nesta última foi encontrado a menor quantificação de compostos fenólicos totais. Desta forma, é possível observar que o corte da fruta favorece a produção de metabolitos secundários pelas células como forma de proteger a área exposta, sendo estes compostos produzidos de natureza fenólica. No presente estudo pôde-se observar também que os maiores valores de CFT foram verificados nos cortes em semicircunferências que ficaram mais tempos expostos ao ozônio (20 minutos), o que possibilitou maior acúmulo de compostos fenólicos produzidos pelas células expostas da fruta quando comparados com a fruta sem tratamento.

Os resultados de compostos fenólicos obtidos no presente estudo foram superiores aos verificados por Lim *et al* (2007) (21 EAG / 100 g base seca, Choo *et al* (2012) (24,22 EAG / 100 g) e Wu *et al* (2006) (42,4 EAG / 100 g) que estudaram a pitáia da espécie *H. polyrhizus*.

Para pitáia vermelha, a literatura mostra valor de 38,78 mg / 100 g (Lopes, Cordeiro, Mattiotto, 2009). Assim, os resultados elevados de compostos fenólicos totais estão diretamente relacionados às variáveis independentes do delineamento experimental.

As diferenças encontradas no teor de compostos fenólicos totais para a pitáia, tanto submetida às diferentes tratamentos como a sem tratamento (controle), ou seja, são devido à diversos fatores, como as condições edafoclimáticas, tratos culturais, época e local de colheita, variedade e manuseio pós-colheita podem interferir nas características físico-químicas do fruto pitáia (Lima *et al.*, 2013).

Ferreira (2013) obteve valores de 162,8 mg / 100 g de fruta juçara (*Euterpe edulis Martius*), já para Lago, Gomes e Silva (2006), os valores encontrados para o fruto jambolão foram de 276,70 mg / 100 g e para pitanga de 420 mg / 100 g. Para pitáia vermelha, a literatura mostra valor de 38,78 mg / 100 g, referentes aos estudos de Lopes, Cordeiro, Mattiotto (2009).

Diversos fatores interferem na estabilidade das antocianinas, que é maior em meio ácido, mas pode ocorrer degradação por vários mecanismos, como por exemplo, perda de cor com o surgimento de coloração amarelada e formação de produtos insolúveis. A estabilidade da cor de antocianinas é dependente da estrutura e da concentração dos pigmentos, além de fatores como o pH, a temperatura e a presença de oxigênio (Figura 10).

Desta forma, as diferenças de colorações encontradas nos extratos estão diretamente relacionadas à quantificação de antocianinas, pois são mais estáveis em solução ácida do que em neutras e alcalinas, sendo que em condições ácidas, estão na forma de cátio flavílio (AH^+) de cor vermelha.

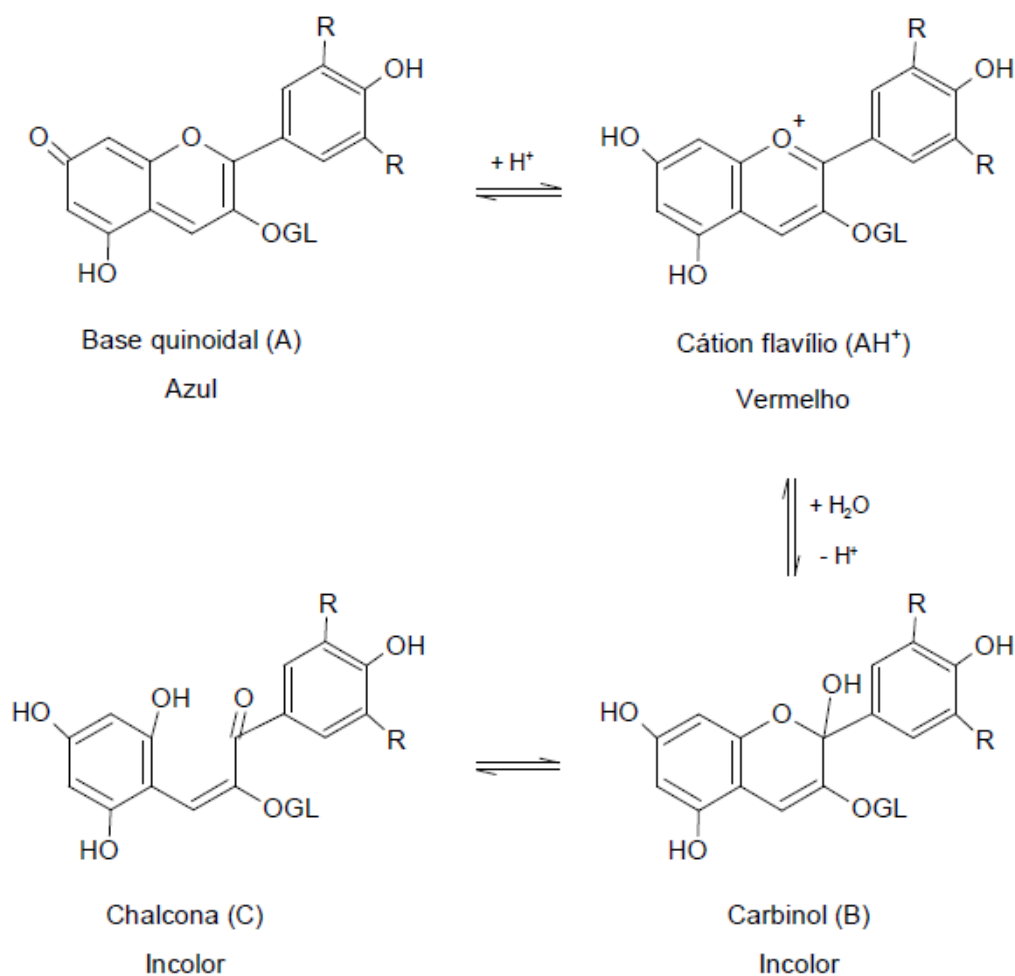


Figura 10 – Formas estruturais relacionadas com a coloração (In: Malacrida e Motta, 2006, p.65).

O delineamento experimental prediz o máximo de quantificação de compostos fenólicos (635,75 mg de EAG / 100 g) para extração, usando os níveis de variável de 6 cm, 3 mg / min. e 20 minutos, com desejabilidade de 0,896. Para antocianinas totais, o experimento prediz um resultado de 3383,52 mg de cianidina-3-glicosídeo / 100 g, utilizando diâmetro de 4 cm, concentração de ozônio de 14 mg / min. e tempo de ozonização de 20 minutos, com desejabilidade de 0,962.

3.4 Validação do delineamento experimental

A validação do delineamento experimental foi realizada visando otimização simultânea dos valores máximos de atividade antioxidante por ABTS (93,26 μM trolox / g) e DPPH (120,22 μM trolox / g), assim como compostos fenólicos (634,64 mg EAG / 100 g) e antocianinas totais (3383,52 mg de cianidina-3-glicosídeo / 100 g). Os valores de respostas para as variáveis independentes de pitáia minimamente processada e submetidas à otimização foram diâmetro da fruta de 4 cm, concentração de ozônio de 14 mg / minutos e tempo de contato com o ozônio de 20 minutos, com desejabilidade igual a 0,962. Essa validação buscou-se encontrar valores iguais ou próximos aos preditos, utilizando as melhores condições encontradas para os níveis das variáveis.

As condições descritas das variáveis independentes foram aplicadas ao fruto pitáia e, à partir do extrato, foram obtidos os seguintes resultados: atividade antioxidante com radical ABTS de 74,92 μM trolox / g e com DPPH 120,81 μM trolox / g, compostos fenólicos de 499,19 mg EAG / 100 g e, para antocianinas totais, foi encontrado o valor de 3780,54 mg de cianidina-3-glicosídeo / 100 g. O resultado encontrado para atividade antioxidante por DPPH foi bem próximo ao resultado predito no delineamento. Já os valores de atividade antioxidante por ABTS e compostos fenólicos apresentaram valores mais baixos dos esperados e, para as antocianinas totais, os resultados foram superiores quando comparados aos do delineamento experimental. Isso provavelmente está relacionado ao estágio de maturação da fruta e época adquirida, interferindo nos compostos presentes na amostra analisada. Abreu *et al.* (2012) observaram estudos com diferentes teores de compostos fenólicos totais em frutos pitáia e concluíram que essa variação ocorreu devido à utilização de distintos grau de maturação e origem de procedência do fruto.

Apesar da pequena diferença entre os resultados, pode se dizer que existiu uma boa relação com os valores preditos da otimização, demonstrando uma adequação da aplicação do modelo quadrático, podendo considerar que o delineamento Box-Behnken foi eficiente quando utilizado na otimização do fruto pitaia minimamente processado e ozonizado.

4 Conclusão

Os resultados obtidos mostraram que os compostos fenólicos totais, atividade antioxidante (ABTS e DPPH) e antocianinas totais dos extratos da pitiaia (*Hylocereus polyrhizus*) minimamente processada e submetida à ozonização foram afetadas pelas variáveis independentes, sendo a maior influência o tempo de contato do ozônio com o fruto. O diâmetro da fruta e a concentração de ozônio mostraram efeito pouco significativo. O modelo quadrático representou satisfatoriamente todos os parâmetros de qualidade estudados. A condição otimizada dos níveis das variáveis independentes foram: diâmetro da fruta de 4 cm, concentração de ozônio de 14 mg / min. e tempo de ozonização de 20 minutos, com desejabilidade máxima dos parâmetros preditos de 0,962. A validação das respostas nas condições otimizadas, obtidas através do delineamento experimental Box-Behnken, foi eficiente para confirmar as melhores condições no processo de ozonização da fruta pitiaia vermelha minimamente processada. O processo de ozonização na fruta minimamente processada aumenta o teor de biocompostos e, conseqüentemente, o valor nutricional da fruta.

Referências

Alexopoulos, A.; Plessas, S.; Ceciu, S.; Lazar, V.; Mantzourani, I.; Voidarou, C., Stavropoulou, E. Evaluation of ozone efficacy on the reduction of microbial population of fresh cut lettuce (*Lactuca sativa*) and green bell pepper (*Capsicum annuum*). **Food Control**, v. 30, p. 491-496, 2013.

Allothman, M.; Kaur, B.; Fazilah, A.; Bhat, R.; Karim, A. A. Ozone-induced changes of antioxidant capacity of fresh-cut tropical fruits. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 11, p. 666-671, 2010.

Barreto, G. P. M.; Benassi M. T.; Mercadante, A. Z. Bioactive compounds from several tropical fruits and correlation by multivariate analysis to free radical scavenger activit. **Journal Brazilian Chemical Society**, v. 20 (10), p. 1856-1861, 2009.

Bortolin, R. C.; Caregnato, F. F.; Divan Junior, A. M.; Zanotto-Filho, A; Moresco, K. Z.; Rios, A. O.; Salvi, A.O.; Ortmann, C.F; Carvalho, P.; Reginatto, F. H.; Gelain, D. P.; Moreira, J. C. F. Chronic ozone exposure alters the secondary metabolite profile, antiozidant potencial, anti-inflammatory property, and quality of red pepper fruit from *Capsicum bacatum*. **Ecotoxicology and environmental Safety**, v. 129, p. 16-24, 2016.

Braga, L. *Flores e Folhagens – Pitaia ou Pitaya* (2017). Disponível em: <<http://www.floresefolhagens.com.br/pitaia-ou-pitaya>>. Acesso em: 20 set.2017.

Brilhante, S. E. T.; Neto, F. B. O.; Alcântara, L.A.; Bertini, L. M. Determinação do teor de antocianinas e sua influencia na variação da coloração dos extratos de flores do Oeste Potiguar. In: IX CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTIFICA DO IFRN, 2013, Rio Grande do Norte, Brasil.

Couto, M. A. L.; Canniatti-Brazaca, S. G. Quantificação de vitamina C e capacidade antioxidante de variedades cítricas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 30 (Supl.1): p. 15-19, 2010.

CHOO, W.S.; YONG, W.K. Antioxidant properties of two species of *Hylocereus* fruits. **Advances in Applied Science Research**, Benha, v.2, n.3, p.418- 425. 2011.

Damodaran, S.; Parkin, K. L.; Fennema, O. R. *Química de alimentos de Fennema*. 2010. 4 ed. Tradução de Adriana Brandelli. Porto Alegre: Editora Artmed.

Daroncho, M.; Fogaca, A. O.; Soldera, C.; Marques, J.; Fioravante, J. B. Quantificação da atividade antioxidante através de análises pelos métodos dpsh e abts. In: VI SEMINÁRIO DE NUTRIÇÃO UNIFRA, 2012.

Fan, P.; Huber, D. J.; Su, Z.; Hu, M.; Gao, Z.; Li, M.; Shi, X.; Zhang, Z. Effect of postharvest spray of apple polyphenols on the quality of fresh-cut red pitaya fruit during shelf life. **Food chemistry**, p. 1-37, 2017.

Ferreira, T. I. L. *Quantificação de antocianinas no fruto, polpa e produto processado da Juçara (Euterpe edulis Martius)*. 2013. 65 fs. (Trabalho de conclusão de curso) - Departamento de engenharia de alimentos, Universidade de Taubaté.

Fuleki, T. e Francis, F. J. Quantitative methods for anthocyanins 1. Extraction and determination of total anthocyanin in cranberries. **Journal of Food Science**, v. 33, p. 72-77, 1968a.

Fuleki, T. e Francis, F. J. Quantitative methods for anthocyanins 2. Determination of total anthocyanin and degradation index for cranberry juice. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 33, n. 1, p. 78-83, 1968b.

Glowacz, M.; Rees, D. Exposure to ozone reduces postharvest quality loss in red and green chilli peppers. **Food Chemistry**, v. 210, p. 305-310, 2016.

Han, Q.; Gao, H.; Chen, H.; Fang, X.; Wu, W. Precooling and ozone treatments affects postharvest quality of black mulberry (*Morus nigra*) fruits. **Food Chemistry**, v. 221, p. 1947-1953, 2017.

Han, C.; Li, J.; Jin, P.; Li, X.A.; Wang, L.; Zheng, Y.H. The effect of temperature on phenolic content in wounded carrots. **Food Chemistry**, v. 215, p. 116-123, 2017.

Lago, E. S.; Gomes, E.; Silva, R. Produção de geléia de jabolão (*Syzygium cumini* Lamarck): processamento, parâmetros físico – químicos e avaliação sensorial. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26 (4): p. 847-852, out.-dez, 2006.

Li, X.; Qinghong, Q.; Gao, F.; Han, C.; Jin, P.; Zheng, Y. Effect of cutting styles on quality and antioxidant activity in fresh-cut pitaya fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 124, p. 1-7, 2017a.

Li, X.; Li, M.; Han, C.; Jin, P.; Zheng, Y. Increased temperature elicits higher phenolic accumulation in fresh-cut pitaya fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 129, p. 90-96, 2017b.

LIM, Y.Y.; LIM, T.T.; TEE, J.J. Antioxidant properties of several tropical fruits: A comparative study. **Food Chemistry**, Oxford, v. 103, n.3, p.1003-1008, 2007.

Lima, C. A.; Faleiro, F. G.; Junqueira, N. T. V.; Cohen, K. O.; Guimarães, T. G. Características físico-químicas, polifenóis e flavonoides amarelos em frutos de espécies de pitaias comerciais e nativas do cerrado. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 35, n. 2, p. 565-570, Junho, 2013.

Lopes, T. F. F.; Cordeiro, B. S.; Mattietto, R. A. Caracterização físico-química de pitaia vermelha cultivada no Estado do Pará. In: SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIA DE ALIMENTOS, 8, 2009, Universidade de Campinas - Unicamp.

Magri, N. T.C. Cinética da redução de cor ICUMSA em caldo de cana-de-açúcar por ozonização em reator RPA/CSTR para produção *sulfur-free* de açúcar branco. Dissertação de mestrado. USP – Piracicaba, 2016.

Malacrida, C. R.; Motta, S. Antocianinas em suco de uva: composição e estabilidade. **Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 24, n. 1, p. 59-82 jan./jun, 2006.

Martinez-Hernandez, G.B.; Artes-Hernandez, F.; Gomez, P.A.; Formicac, A.C.; Francisco Artes, F. Combination of electrolysed water, UV-C and superatmospheric O₂ packaging for improving fresh-cut broccoli quality. **Postharvest Biology and Technology**, v. 76, p. 125-134, 2013.

Menezes, T. P.; Ramos, J. D.; Lima, L. C. O.; Costa, A. C.; Nassur, R. C. M. R.; Rufini, J. C. M. Características físicas-químicas de pitaia vermelha durante a maturação. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 36, n.2, p. 631-644, 2015.

Ölmez, H.; Akbas, M. Y. Optimization of ozone treatment of fresh-cut green leaf lettuce. **Journal of food engineering**, v. 90, p. 487-494, 2009.

Orozco, M. C. B.; Coba, T. G. O.; Velázquez, T. G.; Revilla, G. O. Ascorbic acid, phenolic content, and antioxidante capacity of red, cherry, yellow and White types of pitaya cactus fruit (*Stenocereus stellatus Riccobono*). **Agrociência**, v. 43, p. 153-162, 2009.

Rice, R. G.; Graham, D. M.; Lowe, M. t. Recent ozone applications in food processing and sanitation. **Food Satety Magazine**, 2002. Disponível em: <www.foodsafetymagazine.com/magazine-archive1/octobernovember-2002/recent-ozone-applications-in-food-processing-and-sanitization/>. Acesso em: 22 dez. 2017.

Robles-Sanchez, R.M.; Rojas-Gratue, M.A.; Odriozola-Serrano, I.; Gonzalez-Aguilar, G.; Martin-Belloso, O. Influence of alginate-based edible coating as carrier of antibrowning agents on bioactive compounds and antioxidant activity in fresh-cut kent mangoes. **LWT-Food Science Technology**, v. 50, p. 240-246, 2013.

Rocha, M. S., Figueiredo, R. W.; Araújo, M. A. D.; Moreira-Araújo, R. S. R. Caracterização físico-química e atividade antioxidante (*in vitro*) de frutos do cerrado piauiense. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 35, n. 4, p. 933-94, 2013.

Rodrigues, L. J. (2010). *Desenvolvimento e processamento mínimo de pitaiia nativa (Selenicereus setaceus Rizz.) do cerrado brasileiro*. 2010. 164 fs. (Dissertação de doutorado – Ciências dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras – MG.

Rufino, M.S.M.; Alves, R.E.; Brito, E.S.; Moraes, S.M.; Sampaio, C.G.; Perez-Jiménez, J.; Saura-Calixto, F. Metodologia científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS. **Comunicado técnico**. Embrapa. 4 p. Fortaleza, 2007a.

Rufino, M.S.M.; Alves, R.E.; Brito, E.S.; Moraes, S.M.; Sampaio, C.G.; Perez-Jiménez, J.; Saura-Calixto, F. Metodologia científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. **Comunicado técnico**. Embrapa. 4 p. Fortaleza, 2007b.

Santos, R. B.; Roza, C. R. Aplicação de ozônio em alimentos. **Revista Higiene Alimentar**, v.24, n.190/191, p. 88-94, 2010.

Silva, M. L. C.; Costa, R. S.; Santana, A. S.; Koblitz, M. G. B. Compostos fenólicos, carotenoides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n.3, p. 669-682, 2010.

Silva, S. B.; Luvielmo, M. M.; Geyer, M. C.; Prá, I. Potencialidades do uso do ozônio no processamento de alimentos. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.32, n.2, p. 659-682, 2011.

Singleton, V. L.; Rossi - JR, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v.16, p. 144-158, 1965.

Soares, M.; Welter, L.; Gonzaga, L.; Lima, A.; Mancini-Filho, J.; Fett, R. Avaliação da atividade antioxidante e identificação dos ácidos fenólicos presentes no bagaço de maçã cv. Gala. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28(3): p. 727-732, jul.-set, 2008.

Tenore, G. C.; Novellino, E.; Basile, A. Nutraceutical potential and antioxidant benefits of red pitaya (*Hylocereus polyhizus*) extrats. **Journal of functional foods**, v. 4, p. 129-136, 2012.

Vizzotto, M.; Schiavon, M. V.; Munhoz, P. C.; Coelho, D. S.; Nachtigal, J. C. Determinação de compostos fenólicos, carotenoides e atividade antioxidante em genótipos de pitaia (espécies não determinadas). In: XXIII CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 24 a 29 de Agosto. Cuiabá- MT, 2014.

Yeoh, W. K.; Alia, A.; Forney, C. F. Effects of ozone on major antioxidants and microbial populations of fresh-cut papaya. **Postharvest Biology and Technology**, v. 89, p. 56-58, 2014.

Wu. L.; Hsu, H. W.; Chen, Y. C.; Chiu, C. C.; Lin, Y.; Ho, J .A. Antioxidant and antiproliferative activities of red pitaya. **Food Chemistry**, v. 95 p. 319-327, 2006.

Wu, W.; Lin, H.; Lin, Y.; Shi, J.; Xue, S.; Hung, Y.; Chen, Y.; Wang, H. Effects of biocontrol bacteria *Bacillus Amyloliquefaciens* LY-1 culture broth on quality atributes and storability of harvested litchi fruit. **Postharvest biology and technology**, v. 132, p. 81-87, 2017.

Zambre, S. S.; Venkatesh, K.V.; Shah, N. G. Tomato redness for assessing ozone treatment to extend the shelf life. **Journal of Food Engineering**, v. 96, p. 463-468, 2010.

Zhan, L.J.; Li, Y.; Hu, J.Q.; Pang, L.Y.; Fan, H.P. Browning inhibition and quality preservation of fresh-cut romaine lettuce exposed to high intensity light. **Innov. Food Sci. Emerg. Technol.**, v. 14, p. 70-76, 2012.

Capítulo 2. Vida de prateleira do fruto pitaia minimamente processado: caracterização físico-química e microbiológica.

RESUMO

A fruta pitaia tem se destacado no mercado brasileiro pela sua aparência exótica atrativa, e pelo sabor e textura diferenciados. A busca por produtos minimamente processados tem aumentado devido a praticidade para o consumo imediato, e devido a este aumento na demanda, as indústrias tem buscado alternativas que possam ajudar no preparo e na conservação destes produtos, buscando uma vida de prateleira estendida e que proporcione uma melhor preservação das características da fruta *in natura*. A utilização do ozônio como sanitizante no tratamento de fruta minimamente processadas tem se mostrado uma alternativa promissora, uma vez que o ozônio não deixa resíduo, em comparação ao cloro que é um método de sanitização mais comumente utilizado, porém que por apresentar compostos residuais pode causar danos a saúde do consumidor. Neste estudo, foi utilizado um tratamento para diâmetro de corte (4 cm), tempo de exposição (20 min) e concentração de ozônio (14 mg/min) estabelecidos por um delineamento experimental realizado no estudo prévio no primeiro capítulo. Os resultados obtidos para vida de prateleira mostraram-se satisfatórios até o quinto dia, para as amostras submetidas ao tratamento com ozônio, principalmente para os valores de compostos fenólicos, sendo que os parâmetros microbiológicos atenderam as legislações.

Palavras chave: Pitaia, Vida de prateleira, Ozônio, Microbiológicas, Caracterização.

ABSTRACT

Pitaya fruit has stood out in the Brazilian market for its attractive exotic appearance, and for its distinctive flavor and texture. The search for minimally processed products has increased due to practicality for immediate consumption, and due to this increase in demand, industries have sought alternatives that could help in the preparation and conservation of these products, seeking an extended shelf life and providing a better preservation of the characteristics of the fruit *in natura*. The use of ozone as a sanitizer in the treatment of minimally processed fruit has been shown to be a promising alternative, since ozone leaves no residue, compared to chlorine which is a more commonly used sanitizing method, however, because presenting residual compounds can cause damages the health of the consumer. In this study, a treatment was used for cut off diameter (4 cm), exposure time (20 min) and ozone concentration (14 mg / min) established through an experimental design conducted in the previous study in the first chapter. The results obtained for shelf life were satisfactory until the fifth day, for the samples submitted to the treatment with ozone, mainly for the values of phenolic compounds. Since the microbiological parameters have complied with the legislation.

Keywords: Pitaya, Shelf life, Ozone, Microbiological, Characterization

1. Introdução

Reações oxidativas das células aeróbicas produzidas durante o processo respiratório levam à formação de radicais livres, que contribuem para o desenvolvimento de diversas doenças. Estudos epidemiológicos mostram que o alto consumo de frutas e vegetais está associado com a redução do risco de diversas doenças crônicas como aterosclerose e câncer. Estes efeitos têm sido atribuídos a compostos que possuem atividade antioxidante tais como a vitamina C, compostos fenólicos, com destaque os flavonoides, e os carotenoides, os quais combatem os radicais livres no organismo (Silva, 2010).

A demanda do consumidor pela alta qualidade e conveniência do corte fresco de frutas aumentou bastante nos últimos anos, à medida que os consumidores integraram dietas saudáveis com o conceito de refeições prontas para comer. Esses produtos são apresentados nas geometrias palitos, fatias ou cubos de frutas, geralmente embalados em bandejas ou bolsas feitas de material plástico transparente (Manzocco, 2016).

As frutas e vegetais frescos são produtos minimamente processados que devem estar em estado bruto, não congelado ou não processado termicamente, e prontos para comer ou cozinhar (Oliveira, 2015). Porém, esse processo é bem conhecido por promover, mais rapidamente, a deterioração em comparação com a fruta inteira. Por isso, as frutas e vegetais minimamente processados devem sempre serem mantidos sob refrigeração, pois a vida útil desses produtos tendem a ser mais curta (Manzocco, 2016).

Além disso, consumir alimentos não cozidos tem risco associado a surtos de doenças transmitidas pelos alimentos contaminados. Operações de processamento,

como descascar e cortar proporcionam danos nos tecidos do fruto causando, assim, reações adversas no produto como escurecimento da polpa da fruta, perda de textura e aumento da carga microbiana (Chen, 2016).

Para reduzir a contaminação microbiana, melhorar a segurança e aumentar a vida de prateleira, é essencial uma eficiente sanitização das frutas e verduras após a colheita e durante o seu processamento. Pesquisas têm sido desenvolvidas visando minimizar os efeitos de contaminação por microorganismos, como a aplicação de ácidos orgânicos, cloro e ozônio, sem que estes prejudiquem o frescor do produto *in natura* (Weng, 2016).

O uso de cloro como sanitizante é provavelmente o método mais amplamente adotado na indústria de processamento de frutas frescas e vegetais, já que atua contra um amplo espectro de microorganismos e é acessível economicamente em comparação com outros sanitizante (Weng, 2016). A forma comum de cloro utilizado na indústria de processamento mínimo é o hipoclorito de sódio (NaClO). O uso de sistemas à base de hipoclorito para lavagem de vegetais já está proibida em vários países da União Européia, devido ao risco de desenvolvimento de diferentes tipos de cânceres (Dilmaçunal, 2014).

Dentre os recentes métodos de sanitização de frutas e hortaliças encontra-se a ozonização, que inicialmente era usada para tratamento da água na Europa. Com o passar do tempo, outras aplicações comerciais foram encontradas para o ozônio como desinfecção de água engarrafada, piscinas, prevenção de incrustação de torres de resfriamento e tratamento de águas residuais. Somente em 1997 o ozônio começou a ser usado como sanitização no processamento de alimentos, desde que aplicado conforme as boas práticas de fabricação, e a verificação de seu poder

antimicrobiano em alimentos, devido a sua potente capacidade de oxidação (Guzel-Seydima, 2004).

O tratamento com ozônio é altamente eficaz contra uma variedade de bactérias, fungos, leveduras e vírus, mesmo em baixa concentração e temperatura ambiente, sendo este já amplamente utilizado como desinfetante em água potável e tratamento de águas residuais (Zambre, Venkatesh, Shah, 2010).

O ozônio, quando comparado ao cloro, é um potente sanitizante, que se decompõe rapidamente e não forma os subprodutos produzidos pela cloração como, por exemplo, os trialometanos (THMs). Ainda é importante ressaltar que a aplicação do ozônio requer alguns cuidados, por ser um gás extremamente tóxico em concentrações elevadas. Desta forma, os manipuladores em contato com o ozônio na indústria devem ser rigidamente monitorados (Silva *et al.*, 2011).

Na indústria de transformação de alimentos (Strickland Produce Co.- USA) é utilizado um sistema de geração de ozônio e filtração para processar as saladas frescas, que fornece maior garantia de segurança alimentar, melhora na vida de prateleira do produto, além de reduzir substancialmente o uso de água fabril. A North Coast Seafood Co. – USA, que também utiliza um sistema de ozonização para o processamento de peixe, verificou um aumento de 50% na vida de prateleira dos peixes brancos quando submetidos ao tratamento com ozônio (Rice, Graham e Lowe, 2002).

O fruto pitia se divide em três variedades de frutos que tem valor comercial sendo eles: a de casca vermelha e de polpa branca, (*Hylocereus undatus*), a pitia vermelha e de polpa vermelha, (*Hylocereus costaricensis*); e a pitia de casca amarela, que possui espinhos e polpa branca, (*Selenicereus megalanthus*). O gênero *Hylocereus* é um cacto americano de hábito variado e amplamente

distribuído da Costa da Flórida ao Brasil. Este fruto é conhecido por uma variedade de nomes comerciais e nativos, sendo que no Brasil prevalece ‘pitaia’, podendo ser consumido *in natura* ou na forma de suco, geléia, iogurte, doce, conserva e outras sobremesas (Menezes *et al.*, 2015).

A pitaia é uma planta rústica da família *Cactaceae* do grupo de frutíferas tropicais e é conhecida mundialmente como “Fruta do Dragão”, sendo seu cultivo promissor devido à sua aparência exótica, sabor doce e suave, polpa firme e diversas propriedades nutricionais e funcionais. Dentre as características físico-químicas para avaliar a qualidade desses frutos, destacam-se o teor de sólidos solúveis, pH, acidez total titulável e os compostos fenólicos, apresentando variações quantitativas e qualitativas dessas características em função de fatores intrínsecos, como: cultivo, variedade, estágio de maturação e também fatores extrínsecos, como as condições climáticas e edáficas (Lima *et al.*, 2013).

Métodos de produção seguros e procedimentos adequados de sanitização / descontaminação são, portanto, passos críticos para garantir a segurança das frutas e vegetais frescos prontos para serem ingeridos. Diante disso, o presente trabalho teve por objetivo aplicar dois diferentes tratamentos de sanitização: ozônio e cloro no fruto pitaia minimamente processado e verificar a vida de prateleira da fruta em relação as condições microbiológicas, físico-químicas, atividade antioxidante, compostos fenólicos e antocianinas.

2. Material e Método

2.1 Coleta das amostras e preparo para a vida de prateleira do fruto pitaia

Os frutos pitaia, do gênero *Hylocereus polyrhizus*, foram adquiridos em novembro/dezembro de 2017. Foram comprados no comércio de Assis-SP originados do CEAGESP, de São Paulo-SP. Primeiramente foi realizada uma higienização (etanol 70%) nos materiais e superfícies utilizadas. Em seguida, as frutas de pitaia inteiras foram lavadas em água corrente, descascadas e cortadas. O diâmetro das frutas, assim como as condições de ozonização, foram estabelecidos à partir da condição otimizada no delineamento experimental do Capítulo 1. Assim, as frutas foram cortadas em semicircunferência de 4 cm de diâmetro e 0,5 cm de espessura e divididas em dois grupos para aplicação dos diferentes tratamentos sanitizantes.

O primeiro tratamento consistiu em colocar os cortes de pitaia em uma câmara com fluxo controlado de ozônio (ozonizador da marca Ozôniobras) durante 20 minutos. No segundo tratamento, os cortes de pitaia foram colocados em solução de cloro a 0,2 ppm, para sanitização de frutas minimamente processadas durante 1 minuto.

As frutas cortadas e previamente tratadas foram acondicionadas em embalagens de tereftalato de polietileno (PET) e armazenadas a 5 °C. Foram realizadas análises físico-químicas e microbiológicas em tempos estimados de 0, 3, 5 e 9 dias para avaliar a influência dos diferentes tratamentos na qualidade do produto final. Também foi realizada a comparação dos diferentes tratamentos com a amostra controle, a qual foi armazenada nas mesmas condições, porém não recebeu tratamento.



Figura 1 – Frutos minimamente processados acondicionados em embalagens PET

2.2 Análises físicas e químicas

Foram realizadas análises físico-químicas da pitaia, segundo as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (Instituto Adolfo Lutz, 1985) e da Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 1996). Todas as análises foram realizadas em triplicata.

2.2.1 Mensuração da perda de peso

A perda de massa (Equação 1) foi determinada por pesagem em balança semi-analítica, com os resultados expressos em porcentagem, considerando-se a diferença entre o peso inicial da fatia e aquele obtido a cada intervalo de tempo de amostragem.

$$PM (\%) = 100 \frac{(mi - mt)}{(mi)}$$

Equação 1

Onde m_i e m_t são a massa total do produto no tempo inicial e a um dado tempo t , respectivamente.

2.2.2 pH

O pH foi determinado na amostra de fruta triturada, filtrada e centrifugada, utilizando pHmêtro da marca pHTek (Lutz, 1985).

2.2.3 Acidez Total

A determinação de acidez total foi realizada conforme método descrito por Adolfo Lutz (1985). Foi pesado 1 g da amostra, transferido para um frasco erlenmeyer de 125 mL, com o auxílio de 50 mL de água. Em seguida foi homogeneizado e filtrado. Para determinar a acidez total da amostra, foi, adicionado o indicador fenolftaleína e por titulometria com solução de hidróxido de sódio 0,1 N foi quantificado a acidez total em % de ácido cítrico (Equação 2).

$$\frac{V \times f \times 100}{P \times c} = \text{acidez em solução normal por cento v/p} \quad \text{Equação 2:}$$

Onde V é o número de mL da solução de hidróxido de sódio 0,1 ou 0,01 N gastos na titulação; f é o fator da solução de hidróxido de sódio 0,1 ou 0,01 N; P é o número de g da amostra usada na titutlação; c é a correção para a solução de NaOH 1 N ($c = 10$, para solução NaOH 0,1 N).

2.2.4 Umidade

A determinação da umidade foi realizada por secagem em estufa com circulação de ar (Nova Ética, modelo 420 –ID), a 80°C por 24 horas ou até peso constante (AOAC, 2000).

2.2.5 Sólidos Solúveis

Os sólidos solúveis foram obtidos por leitura direta em refratômetro tipo ABBE, a 25° C, e os resultados expressos em °Brix de acordo com a metodologia técnica de AOAC, 1997.

2.3 Caracterização de biocomposto

2.3.1 Reagentes químicos

Os reagentes de 2,2- azino-bis-3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico (ABTS); 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxico (Trolox); 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH); e reagente de Folin-Ciocalteu foram adquiridos da Sigma Chemical Brasil. O ácido gálico e o Cloreto de Alumínio foi obtido da Synth, Brasil. O etanol PA (99,9%) utilizado foi da marca Vetec-Sigma Chemical Brasil.

2.3.2 Preparo do Extrato

A extração de biocompostos foi realizada de acordo com método proposto por Barreto *et al.* (2009), com algumas modificações, que consistiu em triturar 10 g de amostra com 40 mL de uma solução etanol 40% em um mixer (Mallorby modelo Robot up), agitação a 600 rpm em uma mesa agitadora (marca Tecnal TE-141) por 60 minutos, e logo após filtração à vácuo (Tecnal TE-058). O resíduo contido no filtro foi rinsado com o solvente etanol 40% e filtrado. Esse procedimento foi repetido,

utilizando cerca de 60 mL de solvente, para a máxima extração de compostos presentes no resíduo. Em seguida, o sobrenadante foi transferido para um balão de 100 mL, completado o volume com etanol 40%, o qual foi utilizado nas análises. Os extratos, para cada tratamento e tempo, foram preparados em duplicata.

2.3.3 Fenóis Totais

A determinação de compostos fenólicos totais (CFT) foi através de ensaios colorimétricos segundo metodologia de Singleton e Rossi (1965) utilizando o reagente Folin-Ciocalteu. O método baseia-se na reação entre compostos fenólicos presentes na amostra com carbonato de sódio, formando fenolatos, que são capazes de reduzir a mistura do reagente de Folin-Ciocalteu. A absorbância da cor azul indicou a reação de compostos antioxidantes e foi medida a 765 nm (marca Biospectro, modelo Sp220). O teor de compostos fenólicos totais foi determinado utilizando uma curva padrão de ácido gálico. Os resultados foram expressos em mg de ácido gálico equivalente (EAG) / 100 g de base seca. A análise foi realizada em triplicata.

2.3.4 Atividade Antioxidante por ABTS e DPPH

A atividade antioxidante (A.A.), avaliada pelo ensaio de ABTS, foi determinada através do método descrito por Rufino *et al.* (2007). O método constituiu em misturar 3 mL de solução de radical ABTS, previamente preparado com persulfato de potássio, com trinta microlitros (30 µL) de extrato, em diferentes diluições e em triplicata. A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro (marca Biospectro, modelo Sp220), a 734 nm, após 6 minutos de reação da mistura. Resultados foram interpolados com uma curva padrão preparada com Trolox e expressos em µM de Atividade Antioxidante Equivalente a Trolox por g (base seca).

A quantificação de atividade antioxidante dos extratos pelo ensaio de DPPH seguiu a metodologia conforme Mensor *et al.* (2001). Cem microlitros (100 μ L) de amostra, em triplicata, foram misturados com 3,9 mL de solução de radical DPPH e a leitura da absorbância foi medida em espectrofotômetro (marca Biospectro, modelo Sp220) a 515 nm após 30 minutos de repouso da mistura. Os resultados foram interpolados com uma curva padrão preparada com Trolox e expressos em μ M de Atividade Antioxidante Equivalente a Trolox por g (base seca).

2.3.5 Antocianinas

A determinação de antocianinas foi realizada através do método descrito por Fuleki e Francis (1968a, 1968b) com algumas modificações. Com os extratos obtidos já descritos, realizou-se a quantificação de antocianinas em espectrofotômetro (marca Biospectro, modelo Sp220) a 535 nm, utilizando como branco a solução de etanol 40%. Os resultados foram expressos em mg de cianidina-3-glicosídeo por 100 g de base seca.

2.4 Análises microbiológicas

2.4.1 Meios de cultura utilizados e preparo da solução

Foram utilizados o Standard Methods Agar – PCA, para contagem de bactérias aeróbicas mesófilas, e o Agar Batata Dextrose – PDA, para contagem de fungos. O preparo da solução foi feito pesando 10 g de pitaia a ser analisada em 90 mL de água peptonada, previamente preparada, segundo Silva, Junqueira, Silveira (2001). No estudo da vida de prateleira, as análises foram realizadas em triplicata.

2.4.2 Preparo dos materiais utilizados

Os meios de cultivo foram preparados conforme embalagem. Todos os meios foram esterilizados em autoclave por 15 minutos, a 120°C. As pipetas e as placas de Petri utilizadas nas análises foram também esterilizadas em estufa, a 180°C, por uma hora.

2.4.3 Contagem padrão de bactérias aeróbias mesófilas

Foi inoculado 1 mL da solução preparada de água peptonada em placas de Petri, em duplicada. Em seguida adicionou-se o meio de cultura PCA, homogeneizou-se com movimentos circulares e depois que o meio de cultura solidificou nas placas, estas foram invertidas e incubadas à 32°C por 48 horas (Silva, Junqueira, Silveira, 2001).

O resultado foi expresso em UFC / mL, que consistiu em multiplicar o número de colônias típicas contadas pelo inverso da diluição inoculada.

2.4.4 Fungos

O método consistiu em pipetar uma alíquota de 0,1 mL para as placas de ágar PDA, previamente preparadas e solidificadas. Em seguida espalhou-se o inóculo com alça de Drigasliki para absorção da alíquota por todo o meio de cultura. Depois as placas foram incubadas à 25°C por 4 dias (Silva, Junqueira, Silveira, 2001).

O resultado foi expresso em UFC / mL, que consistiu em multiplicar o número de colônias típicas contadas pelo inverso da diluição inoculada.

3 Resultados e discussões

3.1 Análises físico – químicas

A Tabela 1 apresenta os valores dos resultados referentes aos parâmetros físico-químicos de pH, acidez total, umidade, sólidos solúveis e mensuração de perda de peso, de vida de prateleira do fruto pitaita, relacionando os dois tratamentos aplicados (ozônio e cloro 0,2%) com a amostra branco (sem tratamento).

Tabela 1 – Resultados das análises físico-químicas de pitaita minimamente processada.

Propriedades físico – químicas	Período de estocagem (dias)	Tratamentos		
		Sem tratamento	Cloro 0,2%	Ozônio
pH	0	5,01 ± 0,01 ^{aA}	5,06 ± 0,05 ^{aA}	4,94 ± 0,04 ^{aA}
	3	4,90 ± 0,02 ^{aA}	5,11 ± 0,12 ^{bA}	4,88 ± 0,08 ^{aA}
	5	4,90 ± 0,07 ^{aA}	4,92 ± 0,03 ^{aAB}	4,88 ± 0,08 ^{aA}
	7	4,84 ± 0,04 ^{aA}	4,76 ± 0,10 ^{aB}	4,82 ± 0,01 ^{aA}
Acidez (% Ác. citrico)	0	15,80 ± 1,96 ^{aA}	13,69 ± 2,67 ^{aA}	15,15 ± 1,33 ^{aA}
	3	16,86 ± 2,06 ^{aA}	14,09 ± 2,31 ^{aA}	24,97 ± 0,64 ^{bB}
	5	14,30 ± 2,06 ^{aA}	11,74 ± 0,98 ^{aA}	14,08 ± 2,22 ^{aA}
	7	29,88 ± 3,70 ^{aB}	32,44 ± 0,74 ^{aB}	27,96 ± 3,53 ^{aB}
Sólidos solúveis (°Brix)	0	26,00 ± 0,00 ^{aA}	27,83 ± 1,76 ^{aA}	26,17 ± 0,29 ^{aA}
	3	30,57 ± 1,72 ^{aB}	27,17 ± 0,76 ^{bA}	27,40 ± 2,12 ^{bA}
	5	28,83 ± 0,29 ^{aAB}	27,50 ± 0,50 ^{aA}	29,17 ± 0,76 ^{aA}
	7	28,33 ± 0,58 ^{aAB}	26,00 ± 1,00 ^{aA}	27,67 ± 0,58 ^{aA}
Umidade (%)	0	82,09 ± 0,05 ^{aA}	87,80 ± 0,01 ^{aA}	85,95 ± 0,02 ^{aA}
	3	83,20 ± 0,02 ^{aA}	87,14 ± 0,01 ^{aA}	83,70 ± 0,02 ^{aA}
	5	82,65 ± 0,02 ^{aA}	86,06 ± 0,01 ^{aA}	83,98 ± 0,03 ^{aA}
	7	82,29 ± 0,03 ^{aA}	83,69 ± 0,01 ^{aA}	82,95 ± 0,01 ^{aA}
Perda de peso (%)	0	0	0	0
	3	0,17 ± 0,01 ^{aA}	0,13 ± 0,01 ^{aA}	0,13 ± 0,01 ^{aA}
	5	0,22 ± 0,02 ^{aA}	0,22 ± 0,03 ^{aA}	0,15 ± 0,01 ^{aA}
	7	0,17 ± 0,03 ^{aA}	0,18 ± 0,04 ^{aA}	0,26 ± 0,2 ^{aA}

±: Desvio padrão; Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na linha e maiúscula na coluna, não diferem entre si (p < 0,05) pelo teste de Tukey.

Através da Tabela 1 verificou-se que praticamente não houve variação significativa do pH em função do tratamento aplicado (cloro ou ozonização) nos diferentes períodos de armazenamento, sendo apenas verificado diferença no 3º dia para as amostras tratadas com cloro. O pH das amostras ozonizadas e sem tratamento (controle) foi praticamente constante durante todo o período de armazenamento, não apresentando diferença significativa ($p < 0,05$) nos tempos estudados. O mesmo comportamento não foi verificado para a amostra submetida ao tratamento com cloro, já que no 7º dia de armazenamento houve uma redução significativa no pH.

Quanto menor o pH de uma amostra maior é a acidez total, desta forma a diminuição do pH em relação ao tempo, foi possível observar também o aumento dos valores de acidez total em relação ao período de vida de prateleira. Segundo Menezes *et al.* (2015), a redução do pH está relacionada ao acúmulo de ácidos orgânicos, e o aumento devido a atividade respiratória das células, ao consumo desses ácidos durante o amadurecimento dos frutos. Todos os tratamentos apresentaram uma maior acidez total no 7º dia, com aumentos de 58% (tratamento com cloro), 46% (tratamento com ozônio) e 47% (sem tratamento) em relação a amostra inicial.

Na Tabela 1 para as análises de acidez total, notou-se que apenas o ozônio do 3º dia apresentou variação significativa comparado com o cloro e amostra controle. Para as amostras sem tratamento e com cloro ocorreu uma diferença significativa no 7º dia em relação aos demais períodos de armazenamento. Essa diferença também foi percebida no 3º e 7º dia para o tratamento com ozônio.

O valor de acidez total encontrada para as amostras controle de 29,88 % no 7º dia, estão de acordo com os parâmetros encontrados por Cristofoli *et al.* (2014)

para a mesma espécie de fruto pitaia minimamente processada. Esses autores afirmam que a baixa acidez da polpa a caracteriza como uma alternativa para a correção da acidez de outros tipos de sucos nas indústrias.

Para sólidos solúveis verificou-se (Tabela 1) que não houve variação significativa em função do tratamento aplicado (cloro ou ozonização) nos diferentes períodos de armazenamento. Apenas ocorreu uma diferença no 3º dia para as amostras tratadas com cloro e ozônio em relação à amostra controle. Para as amostras ozonizadas e cloradas foram praticamente constante durante todo o período de armazenamento, não apresentando diferença significativa ($p < 0,05$) nos tempos estudados. O mesmo comportamento não foi verificado para a amostra sem tratamento, já que no 3º dia de armazenamento houve aumento significativo no valor de sólidos solúveis.

O maior valor encontrado para sólidos solúveis foi de 30,57 °Brix para a fruta sem tratamento inicial e o menor valor para o tratamento com cloro de 26,0 °Brix no 7º dia. Esses resultados foram semelhantes comparados com Dilmaçunal *et al.* (2014) com amostras de melão num período de 12 dias.

No 5º dia de estocagem foi observado um aumento no teor de sólidos solúveis para o tratamento com ozônio (29,17 °Brix). Resultado semelhante também foram encontrados por Gao *et al.* (2017), no terceiro dia de estocagem a amostra tratada com ozônio apresentou um aumento no teor de sólidos solúveis.

Para o fruto pitaia de polpa branca Jeronimo (2016), determinou o teor de sólidos solúveis de 11,40 °Brix, valor este menor quando comparado com a pitaia vermelha em estudo (26,0 °Brix).

Para as análises de perda de peso e umidade (Tabela 1), não apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) nos tempos estudados e também nos tratamentos aplicados.

Para a umidade e mensuração de perda de peso os resultados foram bem parecidos, mostrando que a umidade está inversamente relacionada com a perda de peso, sendo que para as amostras ozonizadas obteve-se uma diferença na perda de peso de aproximadamente 3% em relação ao início até o final da estocagem. Já para as amostras tratadas com cloro, essa diferença foi de 4% e para a amostra sem tratamento os resultados foram mantidos.

Segundo Nunes *et al.* (2014), a umidade encontrada para a fruta pitiaia vermelha *in natura* foi de 85,52 %, e para a pitiaia branca, Jeronimo (2016), obteve um teor de umidade de 86,03 %. Estes valores encontrados pelos autores foram muito próximos ao encontrado neste estudo para a fruta fresca sem tratamento (82,09 %).

3.2 Análises microbiológicas para bactérias aeróbicas mesófilas e fungos / leveduras

A Tabela 2 apresenta os valores obtidos de bactérias aeróbicas mesófilas e fungos / leveduras em relação à vida de prateleira do fruto pitiaia no período de 0 a 7 dias de estocagem.

Tabela 2 – Resultados das análises microbiológicas para pitaita minimamente processada durante armazenamento a 5°C.

Análise Microbiológica	Período de estocagem (dias)	Tratamento		
		Sem tratamento	Cloro 0,2%	Ozônio
Bactérias mesófilas aeróbicas (UFC/mL)	0	121 ± 6,56 ^{aA}	97 ± 1,15 ^{bA}	101 ± 6,11 ^{abA}
	3	372 ± 3,06 ^{aB}	258 ± 5,29 ^{bB}	213 ± 6,1 ^{cB}
	5	378 ± 18,46 ^{aBC}	392 ± 10,39 ^{aC}	296 ± 6,93 ^{bC}
	7	564 ± 3,46 ^{aD}	542 ± 8,72 ^{bD}	414 ± 12,22 ^{cD}
Fungos / Leveduras (UFC/mL)	0	225 ± 10,07 ^{aA}	80 ± 5,57 ^{bA}	43 ± 11,72 ^{cA}
	3	189 ± 7,57 ^{aB}	176 ± 10,58 ^{aB}	140 ± 7,21 ^{bB}
	5	208 ± 18,48 ^{aAB}	249 ± 6,45 ^{bC}	207 ± 5,51 ^{aC}
	7	282 ± 6,93 ^{aC}	269 ± 14,05 ^{aCD}	256 ± 13,86 ^{aD}

±: Desvio padrão; UFC: Unidade formadora de colônia; Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na linha e maiúscula na coluna, não diferem entre si ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Através da tabela 2, observou-se que no 5º dia de estocagem não houve uma diferença significativa de contagem de bactérias aeróbias mesófilas, entre as amostras tratadas com cloro em relação à amostra controle, porém ocorreu uma diferença significativa comparando esses tratamentos com o ozônio, já que este tratamento contribuiu para reduzir a proliferação de microorganismo nesse período de estocagem.

Em relação a contagem de fungos / leveduras no período de sete dias (tabela 2), todos os tratamentos não apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$), isso deve-se ao fato de tanto o cloro como o ozônio perder sua eficiência com o passar dos períodos, desta forma a quantidade de microorganismos é praticamente igualado a amostra controle.

Nesse período foi possível observar um aumento constante de microorganismos em todos os tratamentos relacionados ao tempo. Esses valores

elevados podem estar relacionados com os resultados de sólidos solúveis, pois segundo Cristofoli *et al.* (2014), os altos valores de sólidos solúveis, tornam a polpa da fruta mais vulnerável a proliferação de microorganismos. Porém no tratamento com ozônio, apesar de se observar um crescimento constante de bactérias e fungos / leveduras no decorrer dos períodos, foi o que apresentou resultados menores no 7º dia. Desta forma o ozônio pode ser considerado o tratamento mais eficaz na inibição tanto de bactérias quanto de fungos / leveduras quando comparado com amostras controle e as tratadas com cloro.

As amostras de fruta tratadas com ozônio apresentaram resultados de contagem de fungos / leveduras relativamente menor em relação ao cloro e as amostras sem tratamento em relação ao período inicial de estocagem. No entanto o efeito de sanitização do ozônio é temporário, com isso o crescimento de microorganismos aumentou no decorrer dos períodos. Segundo Whangchai, Saengnil e Uthaibutra (2006), isso se deve ao fato do ozônio sofrer uma rápida degradação sem deixar resíduo podendo ocorrer uma nova contaminação após um longo período de estocagem.

Segundo Dilmaçunal *et al.* (2014) realizou experimentos comparativos do efeito do cloro com o ozônio em amostras de melão, em que observou que após três dias de estocagem o tratamento com cloro apresentou um aumento no número de bactérias em relação ao ozônio. Concluindo que o tratamento com cloro foi efetivo apenas para células bacterianas vegetativas, mas não para esporos bacterianos que após o período inicial os esporos germinaram tornando-se vegetativos.

Microorganismos como os coliformes, *Escherichia coli* e *Salmonella* são bactérias gram-negativas em forma de haste, que possuem uma fina camada de peptidoglicano na parede celular.

Comparadas com bactérias gram-positivas, como as mesófilas, possuem uma camada de peptidoglicano mais grossa. Assim, bactérias gram-negativas são mais vulneráveis à ação microbicida do ozônio. Além disso, fatores biológicos, como o tipo de frutas e vegetais, concentração e tempo de exposição do ozônio e compostos orgânicos presentes nas superfícies cortadas de frutas, podem resultar em diferentes taxas de redução de populações microbianas após o tratamento com ozônio. (Yeoh *et al.*, 2014).

Segundo Bruno *et al.*, 2005 que encontrou valores para fruta minimamente processadas que variou da ordem de 10^2 a 10^6 UFC/g para fungos/leveduras, valores estes superiores dos encontrados neste estudo para pitaia minimamente processada. Os autores relatam que o baixo pH de frutos minimamente processados e a temperatura de refrigeração favorecem o crescimento de fungos, que podem deteriorar o produto.

A Resolução RDC nº12, de 2 de janeiro de 2001, do Ministério da saúde estabelece os padrões microbiológicos e sanitários para alimentos, assim, não existe padrões específicos para os frutos minimamente processados, no entanto podem ser inseridas no grupo de alimentos de frutas frescas, *in natura*, preparadas, sanitizadas, refrigeradas ou congeladas, que apresentam parâmetros apenas para coliformes e *Salmonella* (Brasil, 2001). Esta legislação não estabelece limites para contagem total ou para fungos / leveduras para frutas e vegetais frescos, pois estes microorganismos fazem parte da microbiota normal, e que pode não influenciar na qualidade e segurança do produto.

Quanto a contagem total de bactérias mesófilas aeróbicas, a resolução francesa estabelece para o parâmetro de $\leq 5 \times 10^7$ UFC/g. No Japão, a legislação estabelece o valor de $\leq 1 \times 10^5$ UFC/g (Santos *et al.*, 2010). Desta forma, os

resultados obtidos através deste estudo encontram-se de acordo com os parâmetros destas legislações.

3.3 Comparação entre os resultados obtidos na vida de prateleira para atividade antioxidante (ABTS e DPPH), compostos fenólicos e antocianinas

A Tabela 3 apresenta os valores obtidos para atividade antioxidante por ABTS e por DPPH, bem como, os valores encontrados para compostos fenólicos e antocianinas totais para fruto pitiaia minimamente processado em relação ao tempo de estocagem.

Tabela 3 – Resultados das análises de atividade antioxidante, compostos fenólicos e antocianinas para pitaiá minimamente processada.

	Período de estocagem (Dias)	Tratamento		
		Sem tratamento	Cloro 0,2%	Ozônio
ABTS (μM Trolox/g)	0	50,20 $\pm$ 0,06 ^{aAB}	41,78 $\pm$ 0,04 ^{bA}	63,50 $\pm$ 0,06 ^{cA}
	3	61,29 $\pm$ 0,04 ^{aB}	74,96 $\pm$ 0,05 ^{bB}	42,53 $\pm$ 0,04 ^{cB}
	5	64,02 $\pm$ 0,05 ^{aB}	63,61 $\pm$ 0,05 ^{abC}	53,73 $\pm$ 0,06 ^{bC}
	7	27,13 $\pm$ 0,04 ^{aC}	61,60 $\pm$ 0,05 ^{bC}	24,01 $\pm$ 0,04 ^{aD}
DPPH (μM Trolox/g)	0	80,03 $\pm$ 0,01 ^{aA}	113,73 $\pm$ 0,01 ^{bA}	102,39 $\pm$ 0,01 ^{cA}
	3	85,33 $\pm$ 0,01 ^{aB}	111,32 $\pm$ 0,01 ^{bA}	88,05 $\pm$ 0,01 ^{aB}
	5	81,08 $\pm$ 0,01 ^{aA}	100,37 $\pm$ 0,01 ^{bB}	82,01 $\pm$ 0,01 ^{aBC}
	7	79,51 $\pm$ 0,01 ^{aA}	87,79 $\pm$ 0,01 ^{bC}	85,44 $\pm$ 0,01 ^{bCD}
Compostos fenólicos (mg EAG / 100g)	0	333,76 $\pm$ 0,004 ^{aA}	447,05 $\pm$ 0,009 ^{bA}	423,07 $\pm$ 0,004 ^{abAB}
	3	259,44 $\pm$ 0,002 ^{aA}	452,55 $\pm$ 0,007 ^{bB}	220,60 $\pm$ 0,006 ^{aAB}
	5	265,92 $\pm$ 0,008 ^{aA}	501,21 $\pm$ 0,008 ^{bA}	370,27 $\pm$ 0,011 ^{cAB}
	7	259,25 $\pm$ 0,010 ^{aA}	363,58 $\pm$ 0,003 ^{bA}	333,39 $\pm$ 0,004 ^{abA}
Antocianinas totais (mg cianidina-3-glicosídeo / 100g)	0	3095,90 $\pm$ 9,33 ^{aA}	3701,36 $\pm$ 17,18 ^{bA}	3204,12 $\pm$ 10,39 ^{bA}
	3	2008,67 $\pm$ 12,65 ^{aB}	4153,85 $\pm$ 11,11 ^{bB}	2119,84 $\pm$ 17,42 ^{aB}
	5	1667,25 $\pm$ 13,06 ^{aC}	3667,81 $\pm$ 7,46 ^{bB}	2587,33 $\pm$ 16,99 ^{cA}
	7	1849,06 $\pm$ 4,98 ^{aBC}	2956,84 $\pm$ 14,28 ^{bA}	2374,43 $\pm$ 13,18 ^{cC}

±: Desvio padrão, EAG: equivalentes de ácido gálico; Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na linha e maiúscula na coluna, não diferem entre si ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Pode-se perceber que a atividade antioxidante ABTS apresentou um aumento para todos os tratamentos no período inicial até o quinto dia de estocagem, porém no sétimo dia houve um decréscimo no valor de atividade antioxidante para todos os tratamentos, sendo o cloro que apresentou maior atividade antioxidante no sétimo dia. Nesse período (7º dia) não ocorreu uma diferença significativa entre a amostra controle com a tratada com ozônio, isso mostra que o contato do ozônio com a fruta é temporário e perde seu efeito na atividade antioxidante com o tempo. Já para o

DPPH, ocorreu um decréscimo constante para os dois tratamentos submetidos, e para a amostra controle verificou-se (tabela 3) que praticamente não houve variação significativa no decorrer do período de estocagem.

O valor para atividade antioxidante pode depender de vários fatores, tais como as condições e etapas de oxidação, a formação e estabilidade dos radicais, assim como a localização dos antioxidantes e as distintas fases do processamento nos alimentos (Fernandes et al., 2016), ou seja, o tratamento sanitizante utilizado influenciará nos compostos presentes nas frutas minimamente processadas.

A Tabela 3 apresenta valores de compostos fenólicos, houve um decréscimo com o decorrer do período. Observando que no 7º dia a amostra com cloro apresentou os maiores valores para esse composto comparando com o tratamento com ozônio e também com o controle. Sendo que não verificou-se diferença significativa entre o ozônio com a amostra controle no ultimo período de estocagem. A amostra controle no decorrer do tempo não apresentou variação significativa ($p < 0,05$).

É importante ressaltar que para todos esses compostos a relação de ozônio com o controle no tempo de 0 dia foi maior, confirmando os resultados no primeiro estudo.

Yeoh et al. (2014), observaram os efeitos do ozônio no conteúdo fenólico total do mamão fresco em diferentes tempos de exposição, durante 10 ou 20 minutos, as amostras aumentaram significativamente ($p < 0,05$) em 8,3% e 10,3%, respectivamente. Resultados semelhantes foram obtidos por Alothman et al. (2010) que relataram que o conteúdo fenólico de abacaxi e banana aumentou significativamente em 15,7% e 8,2%, respectivamente, após a exposição ao ozônio durante 20 minutos. Esses resultados também foram observados no presente

estudo, em que no período 0 dia o tratamento com ozônio obteve um aumento de 21,1% em relação a amostra controle. Sendo que o valor da amostra controle (333,76 mg EAG / 100g) foi superior quando comparado com os resultados de Fernandes (2016) que relatou um valor de 98,76 mg EAG / 100g para o fruto pitiaia vermelha.

Observou-se que para as antocianinas, não houve diferença significativa entre os tratamentos com cloro e ozônio no início, porém a partir do 3º dia a quantificação de antocianinas foi maior que a de ozônio. Sendo que este não apresentou diferença significativa com a amostra controle nesse período de estocagem. Com o decorrer do tempo houve um decréscimo nos valores, o que mostra que há uma perda das antocianinas em relação ao tempo de estocagem devido à degradação deste composto.

4 Conclusão

As análises microbiológicas mostraram que ozônio foi mais efetivo na sanitização do fruto pitiaia minimamente processada contra bactérias mesófilas aeróbicas e fungos/ leveduras, atendendo aos parâmetros internacionais de legislação.

Os resultados das análises de biocompostos mostraram satisfatórios para as amostras submetidas ao tratamento com ozônio. No entanto, este tratamento não foi o mais efetivo na manutenção desses biocompostos com o tempo de armazenamento.

Considerando que a vida útil de frutas frescas é muito curta, alguns dias na extensão da vida de prateleira destes produtos pode representar uma grande vantagem para as indústrias de minimamente processados. A diminuição da carga microbiana e, conseqüentemente, a diminuição da deterioração de frutas frescas, mostra-se interessante comercialmente.

Referências

Abreu, W.C.; Lopes, C.O.; Pinto, K.M.; Oliveira, L.A.; Carvalho, G.B.M.; Barcelo, M.F.P. Características físico-químicas e atividade antioxidante total de pitaias vermelha e branca. *Revista Instituto Adolfo Lutz*. v.71(4),p.656-61, 2012.

Allothman, M.; Kaur, B.; Fazilah, A.; Bhat, R.; Karim, A. A. Ozone-induced changes of antioxidant capacity of fresh-cut tropical fruits. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v.11, p. 666-671, 2010.

AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis of AOAC international In Fruits juices. 16ª edição ,vol. 2, Maryland, 1997.p 37.1 -23.

AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. (2000). Official Methods of Analysis, 17a Ed., AOAC Internacional: Gaithersburg, MD.

Barreto, G. P. M.; Benassi M. T.; Mercadante, A. Z. Bioactive compounds from several tropical fruits and correlation by multivariate analysis to free radical scavenger activit. **Journal Brazilian Chemical Society**. v. 20, ed. 10, p. 1856-1861, 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Resolução RDC 12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos .**Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 10 jan. 2001. Seção 1.

Bruno, L. M.; Queiroz, A. A. M.; Andrade, A. P. C.; Vasconcelos, N. M.; Borges, M. F. Avaliação microbiológica de hortaliças e frutas minimamente processadas comercializadas em Fortaleza (CE). **B. CEPPA - Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, Curitiba, v.23, n.1, jan./jun. 2005.

Chen, C.; Hu, W.; He, Y.; Jiang, A.; Zhang, R. Effect of citric acid combined with UV-C on the quality of fresh-cut apples. **Postharvest Biology and Technology**, v. 111, p. 126-131, 2016.

Cristofoli, N. L.; Lima, C. A. R.; Mota, A. M.; Peixoto, N. M.; Lima, J. da S. S.; Silva, F. M. R.; Vasconcelos, L. B. de T.; Figueiredo, R. W. Pitaia (*H. costaricensis*): Um fruto com características atrativas para a indústria de processamento. **XX Congresso brasileiro de engenharia química**. Florianópolis - SC, 2014.

Dilmaçunal, T.; Erbas, D.; Koyuncu, M. A.; Onursal, C. E.; Kuleas, H. Efficacy of some antimicrobial treatments compared to sodium hypochlorite on physical, physiological and microbial quality of fresh-cut melons (*Cucumis melo* L. var. *inodorus*). **LWT - Food Science and Technology**, v. 59, p. 1146-1151, 2014.

Fernandes, A.C.F. *Produção e caracterização de fermentado alcoólico e vinagre de físalis e pitaia como estratégia de aproveitamento tecnológico*. (Dissertação de mestrado - Programa de Pósgraduação em Microbiologia Agrícola), Universidade Federal de Lavras, (MG), 2016.

Fuleki, T. e Francis, F. J. Quantitative methods for anthocyanis 1. Extration and determination of total anthocyanin in cranberries. **Journal of Food Science**, v.33, p.72-77, 1968a.

Fuleki, T. e Francis, F. J. Quantitative methods for anthocyanis 2. Determination of total anthocyanin and degradation index for cranberry juice. **Journal of Food Science Chicago**, v. 33, n. 1, p. 78-83, 1968b.

Guzel-Seydim, Z. B.; Greene, A. K.; Seydim, A. C. Use of ozone in the food industry. **Lebensm.-Wiss. u.-Technol.**, v. 37, p. 453- 460, 2004.

Han, Q.; Gao, H.; Chen, H.; Fang, X.; Wu, W. Precooling and ozone treatments affects postharvest quality of black mulberry (*Morus nigra*) fruits. **Food Chemistry**, v.221, p. 1947-1953, 2017.

Jacques, A. C.; Oliveira, F. M.; Zambiasi, R. C.; Gandra, E. A. Utilização de ozônio como sanitizante de frutas: efeito sob as antocianinas totais da amora-preta. XX Congresso brasileiro de engenharia química. Florianópolis – SC, 2014.

Jeronimo, M. C. *Caracterização química, físico-química, atividade antioxidante e avaliação dos efeitos citotóxicos da pitaia – vermelha [Hylocereus undatus (Haw.) Britton e Rose] cultivada no Brasil*. (Dissertação de mestrado – Programa de pós graduação em ciências da saúde), Universidade de Brasília, 56 p., 2016.

Lutz, A. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz Métodos Físico Químicos para análise de alimentos, v.1, 3ª edição, 1985, p. 26.

Manzocco, L.; Plazzotta, S.; Maifreni, M.; Calligaris, S.; Anese, M.; Nicoli, M. C. Impact of UV-C light on storage quality of fresh-cut pineapple in two different packages. **LWT - Food Science and Technology**, v. 65, p. 1138-1143, 2016.

Menezes, T. P.; Ramos, J. D.; Lima, L. C. O.; Costa, A. C.; Nassur, R. C. M. R.; Rufini, J. C. M. Características físicas-químicas de pitaia vermelha durante a maturação. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 36, n.2, p. 631-644, 2015.

Nunes, E. N.; Sousa, A.S.B.; Lucena, C.M.; Silva, S.M.; Lucena, R.F.P.; Alves, C. A. B.; Alves, R. E. Pitaia (*Hylocereus sp.*): Uma revisão para o Brasil. **Gaia Scientia**, v.8 (1), p. 90-98, 2014.

Oliveira, M.; Abadias, M.; Usall, J.; Torres, R.; Teixidó, N.; Viñas, I. Application of modified atmosphere packaging as a safety approach to fresh-cut fruits and vegetables - A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 46, p.13-26, 2015.

Rice, R. G.; Graham, D. M; Lowe, M. t. Recent ozone applications in food processing and sanitation. **Food Satety Magazine**, 2002. Disponível em: <www.foodsafetymagazine.com/magazine-archive1/octobernovember-2002/recent-ozone-applications-in-food-processing-and-sanitization/>. Acesso em: 22 dez. 2017.

Rufino, M. S. M.; Alves, R. E.; Brito, E. S.; Moraes, S. M.; Sampaio, C. G.; Perez-Jiménez, J.; Saura-Calixto, F. Metodologia científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS. **Comunicado técnico**. Embrapa. 4 p. Fortaleza, 2007a.

Rufino, M. S. M.; Alves, R. E.; Brito, E. S.; Moraes, S. M.; Sampaio, C. G.; Perez-Jiménez, J.; Saura-Calixto, F. Metodologia científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. **Comunicado técnico**. Embrapa. 4 p. Fortaleza, 2007b.

Santos, T. V. A.; Silva, N.; Junqueira, V. C. A.; Pereira, J. L. Microorganismos indicadores em frutas e hortaliças minimamente processadas. **Braslian journal of Food Technology**, v. 13, n. 2, p.141-146, 2010.

Singleton, V. L.; Rossi - JR, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **Am. J. Enol. Viticult**, v.16, p. 144-158, 1965.

Silva, M. L. C.; Costa, R. S.; Santana, A. S.; Koblitz, M. G. B. Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 3, p. 669-682, 2010.

Silva, N.; Junqueira, V. C. A.; Silveira, N. F. A. **Manual de métodos e análises microbiológica de alimentos**. 2 ed. São Paulo: Varela, 2001.

Silva, S. B.; Luvielmo, M. M.; Geyer, M. C.; Prá, I. Potencialidades do uso do ozônio no processamento de alimentos. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.32, n.2, p. 659-682, 2011.

Yeoh, W. K.; Alia, A.; Forney, C. F. Effects of ozone on major antioxidants and microbial populations of fresh-cut papaya. **Postharvest Biology and Technology**, v. 89, p. 56-58, 2014.

Whangchai, K.; Saengnil, K.; Uthaibutra, J. Effect of ozone in combination with some organic acids on the control of postharvest decay and pericarp browning of longan fruit. *Crop Protection*, v.25, Issue 8, p. 821-825, 2006

Weng, S.; Luo, Y.; Li, J.; Zhou, B.; Jacangelo, J. G.; Schwab, K. J. Assessment and speciation of chlorine demand in fresh-cut produce wash water. **Food Control**, v. 60, p. 543-551, 2016.

Zambre, S. S.; Venkatesh, K.V.; Shah, N. G. Tomato redness for assessing ozone treatment to extend the shelf life. **Journal of Food Engineering**, v. 96, p. 463-468, 2010.

CONCLUSÃO GERAL

Os resultados obtidos mostraram que os compostos fenólicos totais, atividade antioxidante (ABTS e DPPH) e antocianinas totais dos extratos da pitaia (*Hylocereus polyrhizus*) minimamente processada submetidos à ozonização foram afetados pelas variáveis independentes, sendo a maior influência o tempo de contato do ozônio com o fruto, que aumentou o teor de biocompostos e também o valor nutricional da fruta.

A validação do método, comprovou a efetividade de se utilizar o delineamento experimental Box-Behnken para otimização do processamento da fruta pitaia vermelha.

Os resultados obtidos para vida de prateleira com os tratamentos mostraram-se satisfatórios em relação à quantificação de compostos com destaque para o cloro que obteve os melhores resultados. Os parâmetros microbiológicos atenderam às legislações, com melhores resultados para as amostras tratadas com ozônio.

Os resultados obtidos podem representar uma grande vantagem para as indústrias de minimamente processados em relação a vida de prateleira bem como a diminuição da deterioração e da carga microbiana.