



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO**

**UNIDADE ACADÊMICA DE GARANHUNS**

**ENGENHARIA DE ALIMENTOS**

**MONNYKHE LORENA DE OLIVEIRA MELO**

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO EXTRATO DE BETERRABA  
(*Beta vulgaris*) NA FORMA ALCOÓLICA E MICROENCAPSULADA COM  
MALTODEXTRINA**

**GARANHUNS - PE**

**2019**

**MONNYKHE LORENA DE OLIVEIRA MELO**

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO EXTRATO DE BETERRABA  
(*Beta vulgaris*) NA FORMA ALCOÓLICA E MICROENCAPSULADA COM  
MALTODEXTRINA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte das exigências do Curso de Engenharia de Alimentos, para a obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Alimentos.

**Orientadora:** Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Daniele Silva Ribeiro

**GARANHUNS - PE**

**2019**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE  
Biblioteca Ariano Suassuna, Garanhuns - PE, Brasil

M749a Melo, Monnykhe Lorena de Oliveira

Avaliação da atividade antioxidante do extrato de beterraba (*beta vulgaris*) na forma alcoólica e microencapsulada com maltodextrina / Monnykhe Lorena de Oliveira Melo. - 2019.

63 f.

Orientador(a): Daniele Silva Ribeiro  
Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Engenharia de Alimentos, Garanhuns, BR - PE, 2019.

Inclui referências

1. Antioxidantes 2. Beterraba 3. Compostos bioativos  
I. Ribeiro, Daniele Silva, orient. II. Título

CDD 633.63

Monnykhe Lorena de Oliveira Melo

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO EXTRATO DE BETERRABA  
(*Beta vulgaris*) NA FORMA ALCOÓLICA E MICROENCAPSULADA COM  
MALTODEXTRINA**

Trabalho de conclusão de curso apresentado à  
Universidade Federal Rural de Pernambuco,  
Unidade Acadêmica de Garanhuns, como parte  
das exigências do curso para obtenção do  
título de bacharel em Engenharia de  
Alimentos.

APROVADO (A) EM: \_\_\_\_\_

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup>. Daniele Silva Ribeiro (Presidente)  
(Unidade Acadêmica de Garanhuns – UFRPE)

---

Prof.<sup>a</sup> Me. Iris Barbosa de Souza (Membro Titular Interno)  
(Unidade Acadêmica de Garanhuns-UFRPE)

---

Prof<sup>a</sup>. Me. Glêce Milene Santana Gomes (Membro Titular Interno)  
(Unidade Acadêmica de Garanhuns – UFRPE)

*Dedico este trabalho à tudo o que  
perdi para conquistar tudo o que tenho hoje.*

Things take time.

Save, 06/04/2018

## **AGRADECIMENTOS**

Passei boa parte dos últimos anos pensando em quais palavras eu usaria, que pessoas eu citaria e o que eu não poderia esquecer afinal, é um encerramento de um ciclo tão importante. Planejei, estudei e cheguei. Mas, nem de longe estou aqui nas condições que eu tanto sonhei. Por isso, hoje talvez me falem as palavras certas para explicar exatamente o quão cada pessoa que eu citar aqui foi e é importante.

No último ano aprendi muito sobre limites, saudade e o quanto temos que mostrar que somos fortes, quando na verdade apenas guardamos nossas dores dentro de um baú para sofrer todo dia um pouquinho sem preocupar ninguém. Hoje eu sinto que uma parte bem importante de mim se foi e que não importa a quantidade de “eu não aguento mais” que eu suspire baixinho, eu nunca vou me sentir completa de novo e essa é a pior parte de tudo que eu passei até agora.

Primeiramente, agradeço ao meu mentor espiritual por ter tanta paciência sei que foi difícil lidar com tantos questionamentos.

Agradeço aos meus pais Sandoval Ferreira de Melo (*in memoriam*) e Maria Rejane de Oliveira. Obrigada por serem os pais que eu escolhi e que eu precisava ter nesta passagem, que apesar de hoje me doer muito dizer isso, tudo foi do jeito que tinha de ser. Mãe, obrigada por ter aguentado tudo, por ter se esforçado tanto, por dividir o pouco que você tem comigo. Espero um dia poder retribuir tudo o que você fez e faz para que eu realize todos os meus sonhos. Agradeço a minha avó, Maria Fidelix de Oliveira, que é meu exemplo de força e coragem. Obrigada por ter trabalhado tanto para que não me faltasse nada. Este trabalho só existe graças a tudo que a senhora me proporcionou, trabalhando sozinha só com a ajuda da sua determinação de nos dar uma vida melhor. TUDO FOI POR VOCÊS, SEMPRE.

Agradeço ao meu namorado João Vitor por todo amor, companheirismo e apoio em todos esses 9 anos juntos, obrigada por ter sempre o melhor abraço, as melhores piores piadas e por me compreender tão bem.

Aos amigos-irmãos que fiz no colégio Amanda, Tamires, Jorginho, Júlia (e Nicolás<3), Luiz, Rodolfo e Paulinho, vocês fizeram parte de uma das partes mais inesquecíveis da minha vida. Obrigada por depois de anos ainda serem os melhores amigos que eu poderia ter. Em especial a Jorginho pelos 20 anos de amizade, obrigada por ajudar tanto a mim e a minha família; Amanda, obrigada por sempre saber exatamente o que falar em todos os momentos e por ter o coração mais lindo que já tive o prazer de conhecer.

Eu não poderia esquecer de agradecer aos professores que conheci no colégio que sempre me inspiraram e que foram exemplos de profissionais que eu tive o prazer de conhecer na vida, Mário Rodrigues e Charles Lemos. Agradeço a Mário por sempre ensinar muito mais que literatura, por mostrar como é importante pensar fora da caixa, por ensinar que “Pode ser chato ou legal, o barroco é paradoxal”, obrigada por escrever uns dos melhores livros que já li, estarei sempre torcendo pelo seu sucesso. Obrigada Charles Lemos por despertar em mim a vontade de cursar engenharia, mostrar que física não é apenas matemática, que a limitação das exatas muitas vezes está mais em nossas mentes do que de fato nas matérias, obrigada por ensinar que livros “surrados” são os melhores, pois demonstram o quanto nós estudamos e nos esforçamos para aprender.

Obrigada ao IFPE Team. Aos professores Társis Marinho, Leonardo Soares e Eduardo Vasconcelos por serem excelentes profissionais, por serem tão empenhados em de fato contribuir com a educação e por compreenderem toda a minha dificuldade da rotina de fazer dois cursos ao mesmo tempo. E não poderia esquecer de Rafael Cavalcante, o melhor amigo que o IFPE me deu, que tanto me fez rir. Obrigada por me ensinar teste de software e por dividir paçocas e chocalatinhos de laranja.

Em especial agradeço Társis Marinho meu primeiro orientador que até hoje me ajuda em tantos sentidos, obrigada por todo apoio, incentivo, principalmente por todo “Calma, vai dar certo”, mesmo quando eu não acredito nisso, eu não conseguirei colocar em palavras o quão importante tudo isso está sendo.

À UAG, praticamente minha segunda casa que me proporcionou tantas coisas, conhecer tantas pessoas, viver tantas experiências, muito obrigada.

Agradeço a Pedro Viana por dividir todas as derrotas possíveis que podem acontecer durante um TCC, sem você isso aqui não estaria sendo realizado, eu vou demorar muito para conseguir agradecer por tudo que você me ajudou até aqui, migs!

Agradeço às minhas amigas Aline Tenório e Érica Dantas que foram tão importantes nesse último ano. Vocês foram fundamentais. Aline, obrigada por estar comigo desde o começo, realizarmos essa conquista juntas foi extremamente importante para mim. Érica, obrigada por me compreender tanto, por todo café, por viver as alegrias e derrotas que a faculdade nos proporcionou. Agradeço à Nayá Paiva por estar comigo desde as notas baixas em matemática da 7ª série até todas as derrotas sofridas no ciclo básico de engenharia. Obrigada por ser muito mais que uma amiga, por ser uma confidente espiritual que tanto me fez entender e que foi extremamente importante para que eu entendesse mais sobre a passagem pela terra. Obrigada por contribuir com minha evolução. Agradeço a Maria Eugênia por todas as caronas, remédios, ajuda, conversas foram tantas coisas compartilhadas que fica difícil resumir. Agradeço à Tamara Lima por todas as militâncias, mimos e principalmente por me ensinar sobre viver “sem limites” no cartão, mas com uma pele linda. Obrigada migs, vocês foram uma das melhores coisas que a UAG me proporcionou.

Obrigada Erik Souto, por mesmo de longe me apoiar em tantos projetos, por corrigir meus trabalhos, por me ouvir tanto dizer que “Kinho, não vou conseguir” e sempre arranjar tempo pra me ajudar da forma que podia.

Obrigada aos meus queridos profinhos, Tatiana Porto, Romero Sales, Liliane Andrade, Vilma Barbosa, Suzana Pedroza, Anamélia Sales, Everson Feitosa, Caio Sátiro, Érika Valente, Francisco Rezende, Fabrício Ferreira, Andrea Galindo, Suzana Vilanova e Jorge Vinícius, vocês foram essenciais para minha formação, guardo com muito carinho tudo que aprendi com cada um de vocês.

Agradeço à minha orientadora Daniele Ribeiro, por ser uma das melhores professoras que já tive, obrigada pela paciência, foi uma honra ter trabalhado com o grupo Pigmentum.

Agradeço a todos do CENLAG que me ajudaram principalmente, Edson, Milene, Ranielle, Aline, Rodrigo, Marcos e Renann. Agradeço ao grupo Pigmentum que me ajudou de diversas formas para a realização deste trabalho.

Obrigada!

## RESUMO

MELO, M.L.O. **Avaliação da atividade antioxidante do extrato de beterraba (*Beta vulgaris*) na forma alcoólica e microencapsulada com maltodextrina.** P.62. Trabalho de Conclusão de Curso- Universidade Federal Rural de Pernambuco, Garanhuns-PE, 2019.

A beterraba tem importante efeito promotor de saúde, em sua composição apresenta compostos bioativos como betalaínas e compostos fenólicos, ambos reconhecidos por apresentarem alto poder antioxidante. As betalaínas são pigmentos nitrogenados e hidrossolúveis classificados em betacianinas (coloração vermelho-violeta) e betaxantinas (coloração amarelo-alaranjada). Estes pigmentos são indicados como uma alternativa de corantes naturais bioativos, entretanto, devido à instabilidade a fatores ligados as técnicas de processamento de alimentos ainda não são utilizados em grande escala na indústria. Em função disso, a técnica de microencapsulação se mostra como uma possibilidade de aumentar a estabilidade desses compostos além de facilitar o manuseio durante a utilização. O presente trabalho teve como objetivo obter o extrato de beterraba (*Beta Vulgaris*) e avaliar teor de betalaínas, fenólicos, flavonóides e atividade antioxidante, do extrato, antes e depois da microencapsulação por atomização (*spray dryer*), utilizando como agentes carreadores maltodextrinas de dextroses equivalentes (DE) 15 e 20. A atividade antioxidante foi avaliada por meio das análises de ABTS, DPPH e habilidade quelante de  $\text{Cu}^{2+}$ , também foram avaliados o teor de betalaínas, fenólicos e flavonóides. O extrato alcóolico de beterraba apresentou melhor desempenho para todas as análises antioxidantes e teor de compostos bioativos realizadas no presente estudo, em comparação aos resultados obtidos do extrato da beterraba *in natura* e manteve-se na faixa de pH ótimo de preservação das betalaínas, após a extração alcoólica. Tais resultados demonstraram que a extração dos bioativos presentes na beterraba pelo processo de extrativo de sólido-líquido com etanol 70% foi eficiente. As maltodextrinas de dextroses equivalentes de 15 e 20 foram eficientes para preservação de betalaínas e atividade antioxidante. O pó microencapsulado com maltodextrina de 15 DE apresentou maior rendimento no processo de atomização em relação ao pó microencapsulado com maltodextrina de 20 DE, apresentando uma melhor aplicabilidade para a microencapsulação do extrato alcóolico de beterraba por *spray drying*. Ambas as amostras microencapsuladas apresentaram alta retenção de betalaínas e, dessa forma, a atividade antioxidante e o poder tintorial fornecido pelos pigmentos betalaínas presentes no extrato foram mantidos, evidenciando que a técnica de microencapsulação é um processo viável para a proteção desses pigmentos.

**Palavras-chave:** Capacidade antioxidante; Betalaínas; Microencapsulação; Maltodextrina.

## ABSTRACT

MELO, M.L.O. **Evaluation of the antioxidant activity of beet extract (*Beta vulgaris*) in alcoholic form and microencapsulated with maltodextrin.** P.63. Trabalho de Conclusão de Curso- Universidade Federal Rural de Pernambuco, Garanhuns-PE, 2019.

The beet has important health promoting effect, in its composition presents bioactive compounds as betalains and phenolic compounds, both recognized for having high antioxidant power. The betalains are nitrogenous and water-soluble dyes classified into betacyanins (red-violet color) and betaxanthins (yellow-orange color). These pigments are indicated as an alternative to bioactive natural dyes, however due to the instability to factors linked the food processing techniques are still not used on a large scale in the industry. Accordingly, a microencapsulation technique is shown as a possibility of increasing the presence of compounds in addition to facilitating handling during use. This study aimed to get the beet extract (*Beta vulgaris*) and evaluate betalains content, phenolics, flavonoids and antioxidant activity of the extract before and after microencapsulation spray (spray dryer), using as carriers maltodextrins of equivalent dextrose agents (DE) 15 and 20. The antioxidant activity was evaluated through the analysis of ABTS, DPPH and  $\text{Cu}^{2+}$  chelating ability, the betalains, phenolic and flavonoid contents were also evaluated. The beet alcohol extract gave better performance for all the antioxidant analyzes and theoretical bioactivities had no present of study, in comparison with the results obtained in the beet extract, *in natura*, and remained in the pH range of the product of the betalains, after the alcoholic extraction. These results demonstrated that the extraction of the bioactives present in the beet by the solid-liquid extraction process with 70% ethanol was efficient. Maltodextrins of equivalent dextrose of 15 and 20 were efficient for preservation of betalains and antioxidant activity. The microencapsulated powder with maltodextrin of 15 DE presented a higher yield in the atomization process compared to the powder microencapsulated with maltodextrin of 20 DE, presenting a better applicability for the microencapsulation of the alcoholic beet extract by spray drying. Both microencapsulated samples showed high retention of betalains and, therefore, the antioxidant activity and the dyeing power provided by the betalain pigments present in the extract were maintained, evidencing that the microencapsulation technique is a viable process for the protection of these pigments.

**Keywords:** Antioxidant capacity; Betalains; Microencapsulation; Maltodextrin.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1.</b>	Estruturas químicas das betalaínas: ácido betalâmico (a), betaxantinas (b) e betacianinas (c).....	19
<b>Figura 2.</b>	Diferentes tipos de microcápsulas: (A) Parede simples; (B) Multi-camada; (C) Multi-núcleo.....	25
<b>Figura 3.</b>	Modelo esquemático de um <i>Spray Dryer</i> .....	27
<b>Figura 4.</b>	Extrato alcoólico de beterraba.....	45
<b>Figura 5.</b>	(a) Extrato de beterraba microencapsulado com maltodextrina de 15 DE (b) Pó microencapsulado com maltodextrina de 15 DE reconstituído.....	49
<b>Figura 6.</b>	(a) Extrato de beterraba microencapsulado com maltodextrina de 20 DE (b) Pó microencapsulado com maltodextrina de 20 DE reconstituído.....	50
<b>Figura 7.</b>	Extrato de beterraba microencapsulado com maltodextrina de 15 DE (a) e 20 DE (b).....	54

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b>	Teor de betalaínas, fenólicos e flavonoides para o extrato de beterraba <i>in natura</i> e do extrato alcoólico de beterraba.....	44
<b>Tabela 2.</b>	Resultados das análises de DPPH, ABTS e Quelantes de $\text{Cu}^{2+}$ para o extrato de beterraba <i>in natura</i> e extrato alcoólico de beterraba.....	47
<b>Tabela 3.</b>	Resultados das análises de atividade antioxidante DPPH, ABTS, Quelantes de $\text{Cu}^{2+}$ , fenólicos totais, flavonoides e retenção das betalaínas nos pós microencapsulados com maltodextrina de 15 DE (PM15) e 20 DE (PM20).....	50
<b>Tabela 4.</b>	Parâmetros da análise de cor nos pós microencapsulados.....	53

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO I</b> .....	15
1 REVISÃO DA LITERATURA.....	15
1.1 Corantes Naturais Bioativos .....	15
1.2 Compostos Antioxidantes .....	16
1.3 Betalaínas.....	18
1.3.1 Fontes .....	20
1.3.2 Extração.....	20
1.3.3 Estabilidade .....	21
1.4 Microencapsulação .....	24
1.4.1 <i>Spray Drying</i> .....	26
1.4.2 Maltodextrina .....	28
REFERÊNCIAS .....	29
<b>CAPÍTULO II</b> .....	35
2 INTRODUÇÃO .....	35
3 MATERIAIS E MÉTODOS .....	37
3.1 Obtenção da Matéria-Prima .....	37
3.2 Preparação da Matéria-Prima.....	37
3.3 Obtenção dos extratos de beterraba .....	37
3.3.1 Obtenção do Extrato Alcólico de Beterraba .....	37
3.3.2 Obtenção do Extrato da Beterraba <i>in natura</i> .....	38
3.4 Caracterização dos extratos de beterraba.....	38
3.4.1 pH .....	38
3.4.2 Teor de Betalaínas .....	38
3.4.3 Determinação do teor de compostos fenólicos totais .....	39
3.4.4 Determinação do teor de flavonoides .....	39

3.4.5	Avaliação da Atividade Antioxidante.....	39
3.5	Microencapsulação dos Pigmentos da Beterraba.....	41
3.5.1	Rendimento de microencapsulação .....	42
3.5.2	Retenção de Betalaínas .....	42
3.5.3	Avaliação dos Pigmentos Microencapsulados .....	42
3.5.4	Análise de Cor .....	43
3.6	Análise de Dados .....	43
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	44
4.1	Teor de betalaínas, fenólicos e flavonoides da beterraba <i>in natura</i> e do extrato alcóolico.....	44
4.2	Avaliação da Atividade Antioxidante no Extrato Alcólico e no Extrato de Beterraba <i>in natura</i> .....	47
4.3	Avaliação de pós do extrato de beterraba microencapsulados com maltodextrina de 15 DE e 20 DE .....	49
4.3.1	Rendimento da microencapsulação .....	52
4.3.2	Retenção de Betalaínas .....	53
4.4	Análise de cor .....	54
5	CONCLUSÃO .....	56
	REFERÊNCIAS .....	58
	APÊNDICE .....	63

## CAPÍTULO I

### 1 REVISÃO DA LITERATURA

#### 1.1 Corantes Naturais Bioativos

As características organolépticas são determinantes para a aceitação, seleção e consumo dos alimentos. A cor é um dos atributos mais importantes dos alimentos já que é o primeiro aspecto que o consumidor associa a qualidade do produto. Em razão disso, os corantes alimentícios são extremamente importantes na indústria, para garantir a atratividade dos produtos alimentícios. No entanto, com base nas últimas descobertas relacionadas aos efeitos colaterais e problemas de toxicidade de alguns corantes sintéticos, os consumidores em todo o mundo têm mostrado crescente interesse em alternativas naturais (MARTINS, 2017; RAVICHANDRAN et al., 2012)

Os corantes são aditivos responsáveis por conferir, intensificar ou recuperar a cor dos alimentos (BRASIL, 1997). Existem três classes de corantes permitidas pela legislação para aplicação em alimentos: os corantes naturais, o corante caramelo e os corantes artificiais ou sintéticos. De acordo com o artigo 10 do Decreto nº 55.871, de 26 de março de 1965, define-se como corante natural o pigmento ou corante inócuo extraído de substância vegetal ou animal. No caso de corante artificial, este é definido como a substância sintetizada a partir de uma composição química definida.

Os riscos à saúde vinculados à toxicidade dos corantes artificiais são a principal desvantagem do seu uso, o que torna essa categoria de aditivo indesejável para o consumidor (ADEEL; GULZAR; AZEEM, 2017). Corantes artificiais são amplamente utilizados na indústria devido a propriedades como melhor estabilidade e maior gama de cores em relação aos naturais. Entretanto, estudos sugerem que os danos causados pelos efeitos cumulativos do consumo de alguns corantes sintéticos acarretam em reações de hipersensibilidade como urticária, edema angioneurótico, câncer, asma entre outras doenças (ARICI et al., 2016; VIDOTTI; COSTA; OLIVEIRA, 2006).

À medida que se desenvolve estudos que comprovam a ligação entre o consumo de alguns corantes artificiais à doenças, muitos desses aditivos têm sido proibidos por órgãos regulamentadores, como Organização Mundial da Saúde (OMS) e *Food and Drug Administration* (FDA). Desta forma, o posicionamento atual das pesquisas é encontrar alternativas que sejam substituintes desses aditivos como, por exemplo, o uso de corantes naturais (TULI; CHAUDHARY; BENIWAL, 2015).

Os corantes naturais têm maior custo, são menos estáveis e possuem menor intensidade de coloração em relação aos sintéticos (JOSHI et al., 2003), no entanto, é crescente a preferência e a demanda do consumidor por alimentos naturais e saudáveis. Assim, o emprego dos corantes naturais, pode vir a aumentar o custo do produto final, em contrapartida pode oferecer produtos mais saudáveis e seguros (CONSENÇO, 2017).

A natureza possui grande diversidade de fontes de pigmentos coloridos como plantas, animais e microrganismos (TULI; CHAUDHARY; BENIWAL, 2015). As cores naturais de fontes vegetais são provenientes de raízes, sementes, folhas, frutos e flores (BARROZO; SANTOS; CUNHA, 2013). As plantas vêm sendo exploradas como fonte de pigmentos naturais para serem usados em alimentos devido ao baixo risco de toxicidade, segurança e, principalmente, por conta das propriedades benéficas à saúde. Esta temática tem sido alvo de estudos da comunidade científica para aprofundar estudos a respeito de matrizes naturais como fonte de compostos bioativos e corantes (JABEUR et al., 2017).

Carotenóides, antocianinas, betalainas são atualmente os principais pigmentos vegetais que são empregados na indústria em função do seu poder corante e da bioatividade que compostos desses pigmentos fornecem (RODRIGUEZ-AMAYA, 2016; STINTZING; CARLE, 2004).

Antocianinas apresentam atividade antioxidante (ARICI et al., 2016) e segundo Rodriguez-Amaya (2016), essa categoria de pigmentos apresenta também propriedades anti-inflamatórias, anti-cancerígenas e anti-diabéticas. A curcumina, carotenóide comumente utilizado na coloração de queijos, sopas e mostardas possui propriedades antibacterianas, anti-inflamatórias, antioxidantes e anti-cancerígenas (ALMEIDA et al., 2018). As betalainas são reconhecidas pelo elevado poder antioxidante e também são associadas a atividade anti-inflamatória, anti-carcinogênica e propriedade hepato-protetora (CLIFFORD et al., 2015; POORNIMA; SINTHIYA, 2017).

## **1.2 Compostos Antioxidantes**

Define-se por radicais livres espécies químicas como íons, átomos ou moléculas que contém um ou mais elétrons desemparelhados no orbital de valência. Em função da sua configuração, são compostos altamente instáveis e reativos com outras moléculas. Estes originam-se de três elementos: oxigênio, nitrogênio e enxofre. A partir destes componentes criam as espécies reativas de oxigênio (ROS), espécies reativas de nitrogênio (RNS) e espécies reativas de enxofre (RSS) (FERREIRA, et al., 2007; CAROCHO, et al., 2013).

No organismo a formação de ROS é proveniente do metabolismo celular (sistemas endógenos) ou por meio da exposição a fatores exógenos como fumo, poluentes ambientais, drogas, produtos químicos industriais, pesticidas entre outros. O funcionamento adequado das funções fisiológicas está diretamente ligado ao equilíbrio entre a formação e neutralização das ROS por via da ação de antioxidantes (LOBO et al., 2010).

De acordo com Wiernsperger (2003), quando este equilíbrio tende a superprodução de ROS ou deficiência de antioxidantes tem-se o processo de estresse oxidativo. Esta condição favorece a ação das ROS de oxidar e danificar uma grande variedade de espécies moleculares, como lipídeos, proteínas e ácidos nucleicos que são responsáveis pelo desencadeamento de doenças degenerativas como câncer. Desta forma, recorrer a fontes externas de compostos antioxidantes pode auxiliar no tratamento do estresse oxidativo (ACHKAR et al., 2013; CAROCHO; FERREIRA, 2013; FERREIRA; R., ABREU, 2007)

Compostos com atividade antioxidante são responsáveis impedir a formação de radicais livres ou a propagação dessas reações doando hidrogênio de forma que a molécula alvo permaneça estável consequentemente agem no retardo ou prevenção da oxidação (ACHKAR et al., 2013). Essa atividade pode ser avaliada pelo potencial antioxidante que é definido pela composição e propriedades dos constituintes e, ainda, pela atividade biológica, que sujeita-se a biodisponibilidade do antioxidante (SANTOS et al., 2007).

São diversas metodologias propostas para avaliação da atividade antioxidante disponíveis na literatura, todavia umas são mais recomendáveis que outras dependendo da natureza dos compostos presentes nos constituintes de cada amostra. Consequentemente, existem métodos para amostras ricas em compostos hidrofílicos e métodos para amostras ricas em compostos lipofílicos(SUCUPIRA et al., 2014).

Alguns dos métodos mais utilizados para determinação de capacidade antioxidante *in vitro* são DPPH (2,2-difenil-1-picril hidrazina), FRAP (Poder Antioxidante de Redução do Ferro), ORAC (Capacidade de Absorção de Radicais de Oxigênio), Sistema  $\beta$ - caroteno/ácido linoléico e o ABTS (2,2'-azinobis-3-etil-benzotiazolína-6-sulfonato)( WOOTTON-BEARD; MORAN; RYAN, 2011).

Métodos baseados na redução de íons metálicos como  $Fe^{2+}$  e  $Cu^{2+}$  que determinam o poder redutor também são empregados na avaliação da atividade antioxidante. Esses métodos se baseiam na capacidade dos compostos fenólicos presentes na amostra em quelar (reduzir) íons metálicos complexando-os em moléculas estáveis(SANTOS et al., 2007).

Os antioxidantes que controlam a neutralização dos radicais livres nos seres vivos podem ser endógenos (ex. superóxido dismutase) ou exógenos que são os provenientes de

alimentos e outras fontes. Em situações onde há limitação da disponibilidade de antioxidantes que acarretam em lesões oxidativas de caráter cumulativo, recorre-se às fontes exógenas que estabilizam ou desativam os radicais livres antes que ataquem os alvos biológicos das células (MELO et al., 2006; SOUSA et al., 2007).

Os antioxidantes naturais podem ser encontrados de forma isolada em diversos alimentos dentre as fontes mais conhecidas pode-se citar cereais, cogumelos, ervas, frutas e vegetais. As substâncias responsáveis pela atividade antioxidante nessas fontes naturais são minerais, vitaminas e principalmente compostos fenólicos. Sob ponto de vista tecnológico os mais importantes são tocoferóis, carotenóides, ácidos como cítrico e ascórbico e flavonoides (LUZIA; JORGE, 2010).

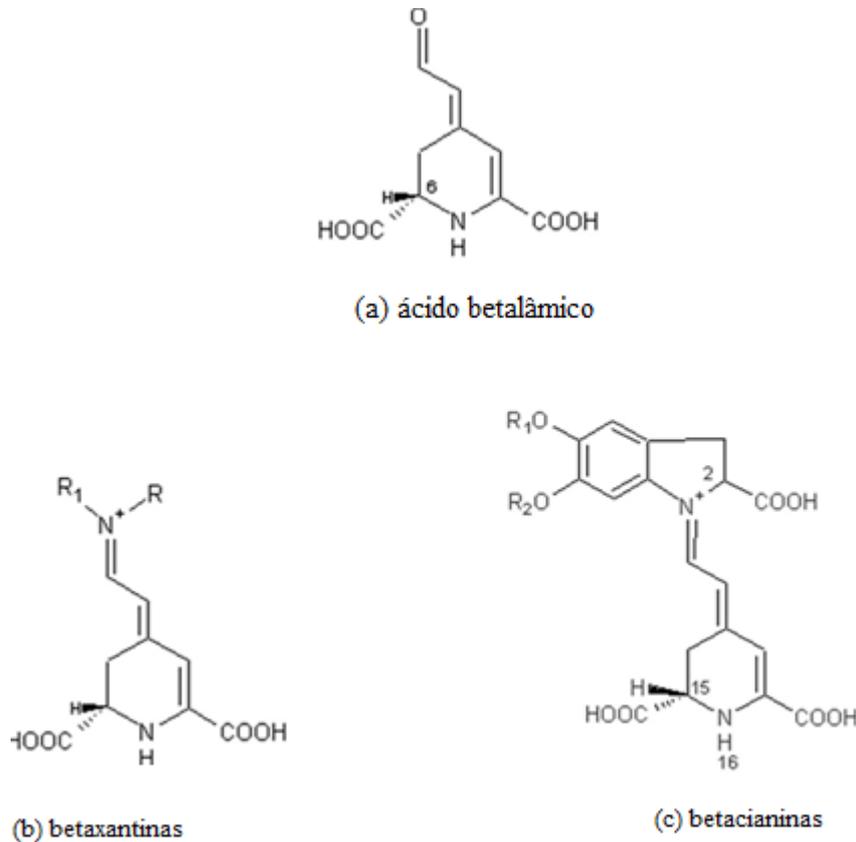
### 1.3 Betalaínas

Betalaínas são pigmentos naturais nitrogenados e hidrossolúveis sintetizados a partir do aminoácido tirosina. Estes pigmentos são característicos de plantas da ordem *Caryophyllales* (ESCRIBANO et al., 2017). Levando em consideração as características estruturais e as propriedades de absorção de luz, as betalaínas são classificadas em dois grupos, as betacianinas (de coloração vermelho-violeta) e as betaxantinas (de coloração amarelo-alaranjadas), ambas apresentam como precursor comum o ácido betalâmico (AZEREDO, 2009; POLTURAK; AHARONI, 2018; SHIOZER; BARATA, 2007).

As betacianinas são formadas a partir da condensação do ácido betalâmico com o ciclohidroxifenilamina (ciclo-DOPA) ou seus derivados glicosídicos, possuem coloração com máximo de absorção à 540 nm. Para formação das betaxantinas o ácido betalâmico condensa-se com aminoácidos e este pigmento tem máximo de absorção à 480 nm (AZEREDO, 2009; KHAN, 2016; SLIMEN; NAJAR; ABDERRABBA, 2017).

Durante muito tempo, na literatura, as betalaínas foram denominadas erroneamente como “antocianinas nitrogenadas”. Posteriormente observaram que antocianinas e betalaínas além de se tratarem de pigmentos distintos, são mutualmente exclusivos e, portanto, não são encontrados concomitantemente na mesma planta (AZEREDO, 2009; SHIOZER; BARATA, 2007).

**Figura 1.** Estruturas químicas das betalaínas: ácido betalâmico (a), betaxantinas (b) e betacianinas (c).



Fonte: Slimen *et al.* 2017.

Segundo Khan (2016), foram identificadas 75 estruturas de betalaínas (incluindo betacianinas e betaxantinas), pertencentes a cerca de 15 famílias da ordem *Caryophyllales*. Além da propriedade de coloração, um dos importantes aspectos pelos quais as betalaínas vem sendo estudadas é o seu alto poder antioxidante (KANNER *et al.* 2001; TANAKA; SASAKI; OHMIYA, 2008). Georgiev *et al.* (2010) e Vulić *et al.* (2012) ressaltam também as atividades anti-inflamatórias, hepatoprotetoras e antitumorais associadas as betalaínas.

São descritos aproximadamente 50 tipos de betacianinas (vermelhos) e 20 tipos de betaxantinas (amarelos). A beterraba contém cerca de 75-95% de betacianina (betanina) e aproximadamente 95% de betaxantina (vulgaxantina I) (SHIOZER; BARATA, 2007) .

O extrato obtido de beterraba vermelha ( em pó ou concentrado) é amplamente utilizado como corante natural em produtos lácteos (sorvetes e iogurtes), bebidas (sucos), doces (biscoitos e sobremesas) e produtos de origem bovina (salsichas cozidas) (GEORGIEV *et al.*, 2010).

### 1.3.1 Fontes

As fontes vegetais de betalaínas são beterraba vermelha e amarela (*Beta vulgaris L. ssp.vulgaris*), acelga colorida (*Beta vulgaris L. ssp.cicla*), grão ou amaranto folhoso (*Amaranthu ssp.*) e frutos de cactos, como os de *Opuntia* e *Hylocereusgenera* (AZEREDO, 2009; ESCRIBANO et al., 2017; STINTZING; CARLE, 2004). Dentre estas, destaca-se a beterraba vermelha visto que as betalaínas são o principal pigmento encontrado neste vegetal, tornando-o um dos mais poderosos antioxidantes disponíveis no mercado (KANNER et al. 2001; SAWICKI; WICZKOWSKI, 2018).

#### 1.3.1.1 Beterraba

De acordo com Tivelli et al. (2011) a beterraba é uma hortaliça característica das regiões de clima temperado da Europa e Norte da África. É uma das principais hortaliças cultivadas no Brasil, sendo três dos seus biótipos (beterraba açucareira, forrageira e hortícula) de significativa importância econômica. O cultivo mais comum é o *Early Wonder* (beterraba vermelha, hortícula ou “de mesa”), cujos bulbos são utilizados para alimentação humana. Em relação as formas de consumo, destaca-se o consumo *in natura* e para beneficiamento em indústrias produtoras de conservas, alimentos infantis, corantes, *snacks* e sucos funcionais.

Em base úmida, a composição centesimal do bulbo da beterraba vermelha é de 11,1 g de carboidratos, 3,4 g de fibra alimentar, 2,0 g de proteínas, 0,1 g de lipídios, 3,1mg de vitamina C e 86 % umidade (TACO, 2011). A hortaliça tem sido constante objeto de estudo em função do seu alto poder antioxidante e por apresentar em sua composição importantes nutrientes para a saúde humana como vitaminas A, C e complexo B, açúcar, ferro, cobre, potássio, silício, sódio, cloro, zinco e manganês(TOLENTINO JUNIOR; ZÁRATE; VIEIRA, 2002).

Além das betalaínas que conferem a beterraba vermelha alto poder antioxidante a hortaliça é portadora de importantes compostos bioativos, como fibras, nitrato, ácido ascórbico, carotenoides, ácidos fenólicos e flavonoides (KANNER et al. 2001).

### 1.3.2 Extração

A extração é uma das operações unitárias mais utilizadas na indústria de alimentos. O principal objetivo deste processo é a obtenção de determinados componentes inicialmente retidos em uma matriz alimentar que podem tanto agregar como aditivos alimentares como podem exercer efeitos benéficos à saúde humana (PINELO; SINEIRO; NÚÑEZ, 2006). O processo de extração é de fundamental importância para obtenção de compostos funcionais,

afetando diretamente no isolamento, identificação, e conseqüentemente na aplicação dos mesmos (RADHA KRISHNAN et al., 2013).

Diversos métodos de extração vêm sendo aplicados em alimentos; partindo da extração sólido-líquido, este método pode utilizar como solvente a água (CISSÉ et al., 2011) ou solventes orgânicos (ZAGHDOUDI et al., 2015). Além deste, a extração pode ser realizada por esmagamento onde o alimento não necessita estar disperso em um meio ou solvente, tecnologias que utilizam campo elétrico e a aplicação de tecnologias não térmicas (SANTOS, 2017).

Fontes vegetais além dos corantes naturais, possuem em sua composição outros constituintes como carboidratos, lipídeos, proteínas, fibras, compostos antioxidantes e em razão dessa diversidade não existem métodos específicos de obtenção dos pigmentos (ACHKAR et al., 2013). No entanto, na literatura, relata-se o comum uso da extração sólido-líquido por meio de uso de solventes para obtenção de compostos bioativos (ANDREO; JORGE, 2014).

De acordo com o estudo realizado por Santos (2017), a extração sólido-líquido é um dos métodos mais aplicados na extração de pigmentos naturais, o qual consiste basicamente na imersão de um sólido em meio líquido (aquoso ou orgânico) com a finalidade de transferir componentes do sólido para o líquido.

O rendimento da extração de bioativos é fortemente dependente da natureza da extração, do tipo de solvente utilizado e da polaridade do mesmo (RADHA KRISHNAN et al., 2013). Tendo em vista a diversidade de características dos compostos fenólicos existentes é necessário a utilização de solventes de polaridades diferentes para a extração e isolamento de cada composto (ANDREO; JORGE, 2014).

Shiozer e Barata (2007) reportam em seu estudo que os solventes mais usados para extração de pigmentos naturais, principalmente betalaínas, são a água, etanol ou metanol onde os dois últimos são mais indicados quando objetiva-se uma extração mais completa.

### 1.3.3 Estabilidade

Segundo Slimen et al. (2017) e Sawicki; Wiczowski (2018) atualmente um dos fatores limitantes para o uso comercial das betalaínas está relacionado à sua estabilidade. Betalaínas são susceptíveis à fatores intrínsecos e extrínsecos como o pH, atividade de água ( $a_w$ ), oxigênio, íons metálicos, temperatura exposição à luz e atividades enzimáticas e estes interferentes podem acarretar na perda de potencial tintorial e propriedades funcionais do pigmento.

A instabilidade das betalaínas restringe seu campo de aplicação à alimentos secos, em pó ou refrigerados (SHIOZER; BARATA, 2007).

Apesar do pH ser um dos fatores interferentes da estabilidade de betalaínas estas não são tão susceptíveis à clivagem hidrolítica como as antocianinas. Segundo o estudo realizado por Jackman e Smith (1996) as betalaínas exibem ampla faixa de estabilidade em pH entre 3 e 7, condições acima destes valores induzem à degradação do pigmento (STINTZING; CARLE, 2004).

Quando se relaciona ao tempo de meia vida, a estabilidade de betacianinas (betaninas) é maior entre pH 5 e 6 na presença de oxigênio; e entre pH 4 e 5 sob condições anaeróbias. No geral, pigmentos vermelhos com betaninas em pH abaixo de 3 mudam de cor para violeta e sua absorção máxima muda para comprimentos de onda mais baixos cerca de 534 à 536 nm. Acima de pH 7 as soluções betanínicas adquirem aspecto azulado (SANTOS; ISMAIL; SCHILLING, 2018; SHIOZER; BARATA, 2007; SLIMEN; NAJAR; ABDERRABBA, 2017).

De acordo com Herbach; Stintzing; Carle (2006) as betaxantinas apresentam-se estáveis em pH variando de 4 a 7, onde seu ponto de maior estabilidade foi registrado em pH 5,5, respectivo pH ótimo das betacianinas. Fora da faixa de pH 3 a 7 as betaxantinas tem a intensidade do espectro diminuídas (SHIOZER; BARATA, 2007).

A água é um fator importante em diversas reações de degradação, intervindo também na estabilidade de betalaínas que são pigmentos afetados diretamente pela  $a_w$  (AZEREDO, 2009). Em função das diversas reações hidrolíticas dependentes da água, a  $a_w$  é um fator determinante para a suscetibilidade à betaninas em relação à clivagem da ligação aldimina (HERBACH; STINTZING; CARLE, 2006).

Valores de atividade de água inferiores a 0,63 favorecem à estabilidade de betaninas, principalmente quando estes pigmentos são submetidos à redução da atividade de água como, por exemplo, pelo aumento da concentração de sólidos e técnica de *spray drying*. No estudo realizado por Serris e Biliaderis (2001) em pigmentos de beterraba microencapsulados, a maior degradação de betaninas foi registrada em  $a_w=0,64$  e, a partir disso, concluíram que o aumento da estabilidade de betalaínas como a diminuição da  $a_w$  pode estar ligado a mobilidade de reagentes ou a limitação solubilidade de oxigênio (MARTINS et al. 2017; AZEREDO, 2009; DELGADO-VARGAS; JIMÉNEZ; PAREDES-LÓPEZ, 2000).

De acordo com Azeredo (2009) as betalaínas reagem com o oxigênio molecular. A primeira mudança visível do contato das betalaínas com o oxigênio é o escurecimento e a

perda de cor principalmente quando a exposição do pigmento ao oxigênio é associada à luz (DELGADO-VARGAS; JIMÉNEZ; PAREDES-LÓPEZ, 2000).

A absorção de luz UV (ou visível) é responsável pela excitação de elétrons  $\pi$  do cromóforo das betaxantinas e betacianinas (ácido betalâmico) elevando-o para um estado mais energético, conseqüentemente há o aumento da reatividade ou a diminuição da energia de ativação para a molécula (JACKMAN; SMITH, 1996; AZEREDO, 2009). Os impactos resultantes da exposição à luz são insignificantes sob condições anaeróbias e, portanto, a degradação das betalaínas pela luz visível é dependente do oxigênio (AZEREDO, 2009;).

Herbach et al. (2006) reportaram sobre a influência do calor sobre o processamento e armazenamento de alimentos e ressalta que a temperatura é um dos fatores de maior importância para manter a estabilidade das betalaínas, visto que este pigmento é conhecido pela sua sensibilidade ao calor.

A taxa de degradação depende da concentração de betalaínas, nível de temperatura, tempo de aquecimento e até mesmo da combinação com outros fatores degradantes como luz e oxigênio. No geral, a decomposição térmica acarreta em perda de cor ou escurecimento do pigmento (SANTOS; ISMAIL; SCHILLING, 2018; SLIMEN; NAJAR; ABDERRABBA, 2017).

Ravichandran et al., 2013 analisaram a interferência de alguns processos térmicos no teor de betalaínas e na atividade antioxidante nos bulbos de beterraba vermelha. Os autores obtiveram que pequenos pedaços de bulbos de beterraba vermelha quando submetidos ao tratamento térmico por imersão em água à 80 °C por 180 segundos, diminuíram em 51% o teor de betacianinas e em 33 % o teor de betaxantinas quando comparados à concentração inicial desses pigmentos.

O processamento térmico pode degradar a betanina por isomerização, descarboxilação, clivagem ou desidrogenação esses processos alteram a coloração do pigmento vermelho para uma coloração marrom claro (AZEREDO, 2009; SANTOS; ISMAIL; SCHILLING, 2018; SLIMEN; NAJAR; ABDERRABBA, 2017).

As principais enzimas interferentes da estabilidade de betalaínas são de origem endógena dentre elas estão as  $\beta$ -glucosidases, polifenoloxidasas (PPOs) e peroxidases (PODs). Esta última enzima está presente principalmente nos vacúolos de células vegetais e tem a capacidade de degradar pigmentos como carotenóides, antocianinas e principalmente betalaínas presentes em extratos de beterraba (SANTOS; ISMAIL; SCHILLING, 2018). Caso não sejam inativadas as enzimas influenciarão diretamente na perda de cor do pigmento devido a degradação das betalaínas (AZEREDO, 2009).

A beterraba vermelha contém grande concentração de polifenoloxidasas, portanto, é importante controlar a atividade desta enzima para reter da melhor forma as betalainas no extrato de beterraba. A atividade de POD é fundamentalmente controlada pelos fatores pH, temperatura atividade de água (HERBACH; STINTZING; CARLE, 2006; SANTOS; ISMAIL; SCHILLING, 2018).

De acordo com Herbach (2006), o pH ótimo da degradação enzimática de betacianinas e betaxantinas foi relatado em torno de 3,4. Os produtos de degradação enzimática são análogos aos da degradação térmica, ácida ou alcalina (ESCRIBANO et al., 2002). As betacianinas são mais propensas à degradação por peroxidases que as betaxantinas, enquanto as últimas são mais oxidadas pelo peróxido de hidrogênio (AZEREDO, 2009; HERBACH; STINTZING; CARLE, 2006).

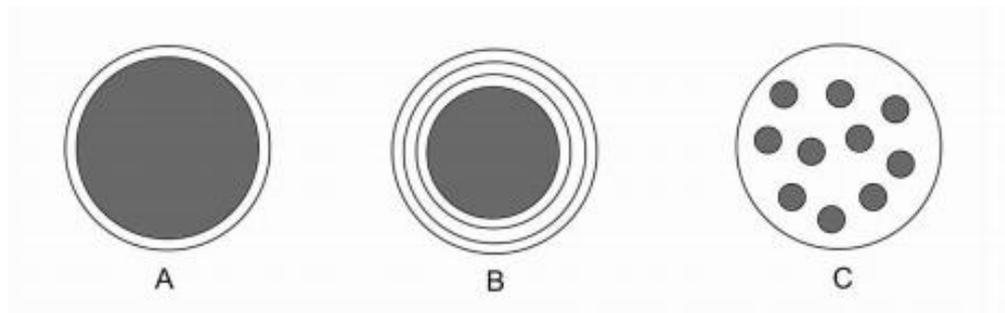
#### **1.4 Microencapsulação**

A técnica de microencapsulamento é um processo onde minúsculas partículas de ingredientes ativos de líquidos, gás ou sólidos (denominadas também de núcleo, recheio, material ativo ou fase interna) são cobertas ou aprisionadas em um segundo material, a cápsula protetora. O material que constitui o revestimento é também nomeado por material de parede, encapsulante, carreador, membrana ou revestimento. As partículas formadas deste processo são as microcápsulas. O processo de microencapsulação objetiva isolar e proteger os componentes ativos de condições degradantes como luz, oxigênio e interação com outros produtos, dessa forma, promove o aumento da estabilidade do produto e evita possíveis consequências da exposição inadequada. As microcápsulas também têm a função de liberar os ativos encapsulados sob condições e velocidades específicas (FAVARO-TRINDADE; PINHO; ROCHA, 2008).

As microcápsulas (Figura 2) são classificadas de acordo com sua estrutura e morfologia. A classificação mais comum leva em conta o número de compostos que fazem parte do material encapsulado e do número de matrizes encapsulantes (KAIMAINEN, 2014):

- Microcápsulas de parede simples: possuem apenas um tipo de material de parede;
- Microcápsulas com multi-camada (ou multi-parede): o núcleo pode ser protegido por várias camadas de um mesmo material de parede ou pode estar envolvido por níveis de diferentes materiais de parede;
- Microcápsulas com multi-núcleo são constituídas por vários compostos que encontram-se incorporados à mesma matriz encapsulante.

**Figura 2.** Diferentes tipos de microcápsulas : (A) Parede simples; (B) Multi-camada; (C) Multi-núcleo.



Fonte: Kaimainen, 2014

O processo de microencapsulação é conhecido há décadas, no entanto vem ganhando espaço em virtude da variedade de aplicações nas mais diversas áreas como a farmacêutica, cosmética e alimentar (SUAVE et al., 2006). Nesta última, há ampla aplicação do microencapsulamento com o objetivo de revestir ingredientes ou aditivos por materiais de parede comestíveis com a finalidade de modificar, melhorar ou estabilizar as propriedades de algumas substâncias. As principais utilizações desta técnica foram compiladas por: (FAVARO-TRINDADE; PINHO; ROCHA, 2011; KAIMAINEN, 2014; DESAI; PARK, 2007).

- Converter líquidos em sólidos para utilização em sistemas secos;
- Proteger o material ativo da degradação diminuindo a reatividade do composto ativo ao ambiente (luz, oxigênio e umidade);
- Reduzir taxas de transferência de massa ou evaporação do material ativo para o ambiente.
- Melhorar as condições de manuseio do material por meio da redução de características como higroscopicidade e formação de aglomerados;
- Controlar a liberação do material ativo até as condições necessárias;
- Mascaram o sabor e odor indesejáveis do material ativo;
- Separar ingredientes para que estes não reajam entre si.

Os produtos finais da encapsulação são classificados de acordo com seu tamanho em nanopartículas ou micropartículas, variando de 0,01 a 0,2  $\mu\text{m}$  e de 1 a 100  $\mu\text{m}$ . Acima de 100  $\mu\text{m}$  elas são denominadas de macropartículas (SUAVE et al., 2006; SANTOS et al., 2000).

Várias técnicas podem ser utilizadas para a microencapsulação, diferindo apenas no tipo de revestimento ou no aprisionamento do material a ser encapsulado pelo material de

parede. A combinação entre o material de parede e o agente ativo pode ser de natureza física, química ou físico-química (SUAVE et al., 2006). Servat et al., (2010) expõem os principais métodos de microencapsulação conforme a lista a seguir:

- Métodos físicos: o *spray drying*, *spray chilling*, *spray cooling*, cobertura por spray em leito fluidizado, extrusão, extrusão centrífuga em múltiplos orifícios, co-cristalização e liofilização;
- Métodos químicos: envolvimento por lipossomas, separação em fase orgânica, inclusão molecular e polimerização interfacial;
- Métodos físico-químicos: coacervação ou separação de fases, emulsificação seguida de evaporação do solvente.

Dentre esses métodos destaca-se o *Spray Drying* que tem sido utilizado na indústria alimentícia desde a década de 60, e atualmente é bastante usado na fabricação de aditivos e aromas alimentícios secos e estáveis (DESAI; PARK, 2007).

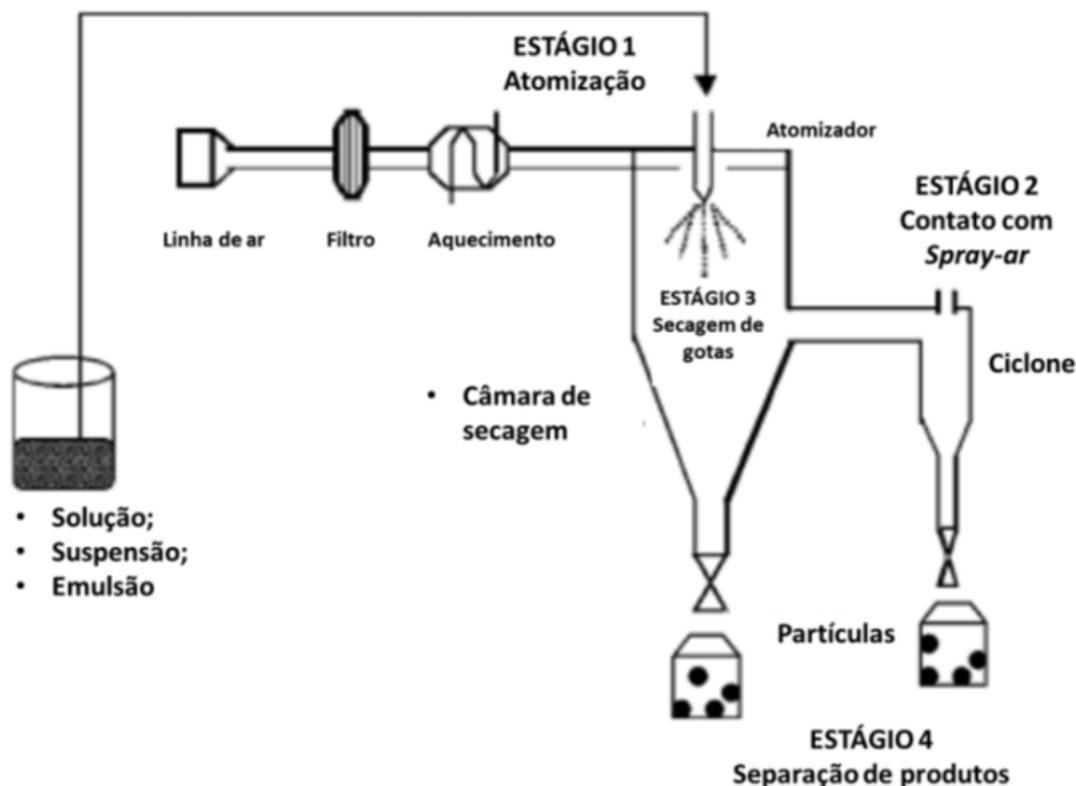
#### 1.4.1 *Spray Drying*

Também conhecido como secagem por atomização ou secagem por pulverização a secagem por *Spray Drying* é um dos métodos mais tradicionais empregados na indústria de alimentos devido às vantagens como flexibilidade, baixo custo em relação às outras técnicas disponíveis, adaptação e qualidade das partículas produzidas. Esta técnica é utilizada para proteger ou isolar compostos ativos sensíveis a condições como luz, oxigênio, e degradação por radicais livres. Portanto, é considerado um método econômico e eficiente para preservação de corantes naturais por meio do encapsulamento (DESAI; PARK, 2007; VILA; CHAUD; BALCÃO, 2015).

A secagem por atomização é um processo contínuo onde um fluido ou líquido é transformado em um produto seco, na forma de pó, durante um período de tempo relativamente curto. O processo envolve a mistura da solução de partículas do núcleo com o material de parede que será a alimentação do *Spray-Dryer*. Dentro do equipamento, a mistura é direcionada ao atomizador que a transforma em gotículas que entram em contato com o fluxo de ar quente. O material de parede solidifica nas partículas do núcleo à medida que o solvente (geralmente, água) evapora e assim originam-se as microcápsulas. A área superficial das partículas é grande, a temperatura do ar de secagem é alta (150 à 300 °C) facilitando a velocidade de desidratação, portanto, essa técnica permite a secagem de produtos sensíveis ao

calor, sem afetar demasiadamente sua qualidade (DESAI; PARK, 2007; KHAN, 2016; VILA; CHAUD; BALCÃO, 2015).

**Figura 3.** Modelo esquemático de um *Spray Dryer*.



Fonte: DA ROCHA-LEÃO et al., 2018

A eficiência da microencapsulação está relacionada a escolha adequada de material encapsulante e das condições ótimas de secagem por *Spray Drying*. As características físico-químicas das microcápsulas produzidas dependem de algumas variáveis de processo como as características da alimentação (viscosidade, tamanho da partícula, e vazão), da temperatura de alimentação, temperatura de entrada de ar e temperatura de saída de ar (GHARSALLAOUI et al., 2007; KAIMAINEN, 2014).

A escolha do encapsulante ideal depende de uma série de fatores como a não reatividade com o material a ser encapsulado, o processo utilizado para a formação da microcápsula e o mecanismo de liberação ideal (FAVARO-TRINDADE; PINHO; ROCHA, 2008). Desai e Park (2007) listam detalhadamente as principais atribuições que um material encapsulante deve ter, portanto, um material de revestimento ideal deve apresentar as seguintes características:

1. Apresentar boas propriedades reológicas (baixa viscosidade) em alta concentração e ser de fácil manuseio durante o encapsulamento;
2. Ter a capacidade de dispersar ou emulsionar o material ativo e estabilizar a emulsão produzida;
3. Ser insolúvel e não reagir com o material a ser encapsulado, tanto durante o processamento quanto no armazenamento prolongado;
4. Ter a capacidade de selar e manter o material ativo dentro de sua estrutura durante o processamento ou armazenamento;
5. Possuir a capacidade de liberar completamente o solvente ou outros materiais utilizados durante o processo de microencapsulação sob secagem ou outras condições de dessolventização;
6. Fornecer proteção máxima ao material ativo encapsulado contra condições ambientais (por exemplo, oxigênio, calor, luz, umidade);
7. Solubilidade em solventes aceiteis na indústria alimentar (por exemplo, água, etanol);
8. Ser de baixo custo, alta disponibilidade e ser adequado para uso alimentício;
9. Fornecer propriedades como impermeabilidade, resistência, flexibilidade, estabilidade e propriedades óticas.

Servat et al. (2010) listaram em seu estudo os materiais mais comuns utilizados como encapsulantes, dentre eles tem-se os carboidratos (amidos, maltodextrinas e sacarose); celuloses (carboximetilcelulose, acetilcelulose, metilcelulose, etil- celulose e nitrocelulose); lipídios (parafina, cera, ácido esteárico, triesterina, monoglicerídeo, óleos, gordura hidrogenada e diglicerídeos); proteínas (glúten, caseína, isolado protéico de soro de leite, gelatina e albumina); gomas (alginato de sódio, carragena e goma arábica), além da quitosana. Dentre estes, os carboidratos são os principais, onde destaca-se o uso da maltodextrina em função do seu custo benefício.

#### 1.4.2 Maltodextrina

Polissacarídeos, no geral, são considerados bons agentes encapsulantes apresentam baixa viscosidade em altas concentrações e boa solubilidade. Entretanto em sua maioria, não possuem propriedades interfaciais que são requeridas para uma eficiente microencapsulação e geralmente são combinados com outros tipos de encapsulantes que tenham esta característica como proteínas ou gomas. As maltodextrinas têm sido extensivamente utilizadas em processos de microencapsulação por conferir aos microencapsulados proteção contra

oxidação, alta solubilidade em água, baixa viscosidade além de ser insípida e inodora (GHARSALLAOUI et al., 2007).

As maltodextrinas são formadas a partir da hidrólise parcial, realizada por ácidos ou enzimas, do amido de milho e encontram-se disponíveis em diferentes graus de dextrose equivalente (DE), este atributo caracteriza o grau de hidrólise do polímero de amido. O aumento do grau de DE aproxima o hidrolisado das propriedades da dextrose (DE = 100), enquanto a diminuição aproxima às propriedades do amido (DE = 0) (SOUZA et al., 2016; TONON, 2009).

Tonon (2009) reporta que a variação de grau DE resulta em maltodextrinas com propriedades físico químicas diferentes. O aumento da DE resulta no aumento da solubilidade, higroscopicidade, escurecimento não-enzimático, sabor adocicado, por outro lado, a diminuição acarreta em maior viscosidade e por consequência maior coesão. Como material encapsulante a maltodextrina protege o material de condições externas (luz, umidade, oxigênio etc.) estabilizando-o, isso influencia diretamente na maior vida útil do material encapsulado, além disso, favorece a liberação controlada do composto ativo em condições adequadas (SARDELLA, 2016).

## REFERÊNCIAS

- ACHKAR, M. T. et al. Propriedade antioxidante de compostos fenólicos: importância na dieta e conservação de alimentos. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, Três Corações, v. 11, n. 2, p. 398–406, 2013.
- ADEEL, S.; GULZAR, T.; AZEEM, M. Appraisal of marigold flower based lutein as natural colourant for textile dyeing under the influence of gamma radiations. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 130, p. 35–39, 2017.
- ALMEIDA, H. H. S. *et al.* Bioactive evaluation and application of different formulations of the natural colorant curcumin (E100) in a hydrophilic matrix (yogurt). **Food Chemistry**, v. 261, n. April, p. 224–232, 2018.
- ANDREO, D.; JORGE, N. Antioxidantes naturais: técnicas de extração. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 24, n. 2, p. 319–336, 2014.
- ARICI, M. *et al.* Tulip petal as a novel natural food colorant source : Extraction optimization and stability studies. **Industrial Crops & Products**, v. 91, p. 215–222, 2016.
- AZEREDO, H. M. C. Original article Betalains : properties , sources , applications , and stability – A review. **International Journal of Food Science and Technology**. v.44, p.12 , p. 2365–2376, 2009.

BARROZO, M. A. S.; SANTOS, K. G.; CUNHA, F. G. Mechanical extraction of natural dye extract from *Bixa orellana* seeds in spouted bed. **Industrial Crops & Products**, v. 45, p. 279–282, 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 540, de 27 de outubro de 1997. Aprova o Regulamento Técnico: Aditivos Alimentares-definições, classificação e emprego. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, de 28 de outubro de 1997.

BRASIL. Ministério da Saúde - ANVISA. Decreto no 55.871/65 de 26 de março de 1965. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents>. Acesso em 16/02/2019

CAROCHO, M.; FERREIRA, I. C. F. R. A review on antioxidants , prooxidants and related controversy : natural and synthetic compounds , screening and analysis methodologies and future perspectives. **Food and Chemical Toxicology**, v. 51, p. 15–25, 2013.

CISSÉ, M. et al. Aqueous extraction of anthocyanins from *Hibiscus sabdariffa*: Experimental kinetics and modeling. **Journal of Food Engineering**, v. 109, n. 1, p. 16–21, 2011.

CLIFFORD, T. *et al.* The potential benefits of red beetroot supplementation in health and disease. **Nutrients**, v.7, n.4, p. 2801–2822, 2015.

CONSENÇO, F. I. G. DA R. *et al.* Desenvolvimento e avaliação da qualidade da polpa e extrato de mirtilo ( *Vaccinium myrtillus* ) em pó. **Revista brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, p. 1847–1859, 2015.

DA ROCHA-LEÃO, M. H. M. DA R.-L. M. et al. Uma Breve Abordagem Sobre As Dispersões Sólidas. **Semioses**, v. 12, n. 3, p. 72–92, 2018.

DELGADO-VARGAS, F.; JIMÉNEZ, A. R.; PAREDES-LÓPEZ, O. Natural Pigments : Carotenoids , Anthocyanins , and Betalains - Characteristics , Biosynthesis , Processing , and Stability. **Crítica Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 40, n. 3, p. 173–289, 2000.

DESAI, K. G. H.; PARK, H. J. Recent Developments in Microencapsulation of Food Ingredients. **Drying Technology: Na International Journal**, v. 23, n.7, p.1361-1364, 2005.

ESCRIBANO, J. *et al.* Subcellular localization and isoenzyme pattern of peroxidase and polyphenol oxidase in beet root (*Beta vulgaris* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 21, p. 6123–6129, 2002.

ESCRIBANO, J. *et al.* Characterization of betalains , saponins and antioxidant power in differently colored quinoa ( *Chenopodium quinoa* ) varieties. **Food Chemistry**, v. 234, p. 285–294, 2017.

FAVARO-TRINDADE, C. S.; PINHO, S. C.; ROCHA, G. A. Revisão: Microencapsulação de Ingredientes Alimentícios. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.11, p.103-112, 2008.

FERREIRA, I. C.; R., ABREU, R. M. Stress oxidativo, antioxidantes e fitoquímicos. **Bioanálise**, Ano IV, n 2, p. 32–39, 2007.

GEORGIEV, V. G. *et al.* Antioxidant Activity and Phenolic Content of Betalain Extracts

from Intact Plants and Hairy Root Cultures of the Red Beetroot *Beta vulgaris cv . Detroit Dark Red*. **Plant Food for Human Nutrition**, n.65, p. 105–111, 2010.

GHARSALLAOUI, A. *et al.* Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. **Food Research International**, v. 40, n. 9, p. 1107–1121, 2007.

HERBACH, K. M.; STINTZING, F. C.; CARLE, R. Betalain Stability and Degradation. **Journal of Food Science**, v. 71, n. 4, p. 41–50, 2006.

JACKMAN R.L, SMITH J.L. Anthocyanins and betalains. In: Hendry GF, Houghton JD, editors. **Natural food colourants**. London: Blackie Academic and Professional;. p. 244–309,1996.

JABEUR, I. *et al.* *Hibiscus sabdariffa L.* as a source of nutrients, bioactive compounds and colouring agents. **Food Research International**, v. 100, p. 717–723, 2017.

JOSHI, V. K. *et al.* Microbial Pigments. **Indian Journal of Biotechnology**, v. 2, p. 362–369, 2003.

KAIMAINEN, M. Stability of Natural Colorants of Plant Origin. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos).Universidade de Turku,2014.

KANNER, J.; HAREL, S.; GRANIT, R. Betalains - A new class of dietary cationized antioxidants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 11, p. 5178–5185, 2001.

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

LOBO, V.; PATIL, A.; PHATAK, A.; CHANDRA, N. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. **Pharmacol. Rev.**, n. 4, p. 118–126, 2010.

LUZIA, D. M. M.; JORGE, N. Potencial antioxidante de extratos de sementes de limão (*Citrus limon*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 2, p. 489–493, 2010.

MARTINS, N. *et al.* Coloring attributes of betalains: a key emphasis on stability and future applications. **Food and Function**, v. 8, n. 4, p. 1357–1372, 2017.

MELO, D. A. *et al.* Capacidade antioxidante de hortaliças usualmente consumidas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.6, n.3,p.639-644, 2006.

PINELO, M.; SINEIRO, J.; NÚÑEZ, M. J. Mass transfer during continuous solid-liquid extraction of antioxidants from grape byproducts. **Journal of Food Engineering**, v. 77, n. 1, p. 57–63, 2006.

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

POORNIMA, K.; SINTHIYA, R. Encapsulation of beetroot extract using spray. **International Journal for Research in Applied Science & Engineering Technology (IJRASET)**. v. 5, n. 4, p. 346–352, 2017.

RADHA KRISHNAN, K. *et al.* Kinetic modeling of spice extraction from *S. aromaticum* and *C. cassia*. **Journal of Food Engineering**, v. 117, n. 3, p. 326–332, 2013.

RAVICHANDRAN, K. *et al.* The effect of different processing methods on phenolic acid content and antioxidant activity of red beet. **Food Research International**, v. 48, n. 1, p. 16–20, 2012.

RAVICHANDRAN, K. *et al.* Impact of processing of red beet on betalain content and antioxidant activity. **Food Research International**, v. 50, n. 2, p. 670–675, 2013.

RAVICHANDRAN, K. *et al.* Effects of different encapsulation agents and drying process on stability of betalains extract. **Journal of Food Science and Technology**, v. 51, n. 9, p. 2216–2221, 2014.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Natural food pigments and colorants. **Current Opinion in Food Science**, v. 7, p. 20–26, 2016.

SANTOS, A.B.; FERREIRA, V.P.; GROSSO, C.R.F., Microcápsulas – Uma alternativa viável (Microencapsulação de produtos sensíveis à oxidação: óleo – resina de páprica). **Biociência**, v. 3, n.16, p.26 – 30, 2000.

SANTOS *et al.* Influência do processamento e da torrefação sobre a atividade antioxidante do café(*coffea arabica*). **Química Nova**, v. 30, n. 3, p. 604–610, 2007.

SANTOS, C.; ISMAIL, M.; SCHILLING, A. Effect of thermal and high pressure processing on stability of betalain extracted from red beet stalks. **Journal Food and Science Technology**, v. 55, n.2, p. 568–577, 2018.

SARDELLA, L.Z.S. **Produção, caracterização e aplicação de extrato de beterraba microencapsulado em matrizes de maltodextrina e amido modificado**. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) - Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, São José do Rio Preto, 2016.

SAWICKI, T.; WICZKOWSKI, W. The effects of boiling and fermentation on betalain profiles and antioxidant capacities of red beetroot products. **Food Chemistry**, v. 259, p. 292–303, 1 set. 2018.

SERRIS, G.S., BILIADERIS, C.G.. Degradation kinetics of beetroot pigment encapsulated in polymeric matrices. **Journal of Science Food and Agriculture**, v.81, p. 691–700,2001.

SERVAT, L. *et al.* Microencapsulação: uma Alternativa Promissora para a Preservação de Produtos Naturais. **Revista Fitos**, v. 5, n. 2, p. 52–57, 2010.

SHIOZER, A. L.; BARATA, L. E. S. Estabilidade de Corantes e Pigmentos de Origem Vegetal. **Revista Fitos**, v. 3, p. 6–24, 2007.

SLIMEN, I. B.; NAJAR, T.; ABDERRABBA, M. Chemical and antioxidant properties of betalains. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 65, p.675-689, 2017.

SOUSA, C. M. D. M. *et al.* Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 351–355, 2007.

STINTZING, F. C.; CARLE, R. Functional properties of anthocyanins and betalains in plants, food, and in human nutrition. **Trends in Food Science and Technology**, v. 15, n. 1, p. 19–38, 2004.

STINTZING, F. C. *et al.* Color, betalain pattern, and antioxidant properties of cactus pear (*Opuntia* spp.) clones. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 2, p. 442–451, 2005.

SUAVE, J. *et al.* Microencapsulação: Inovação em diferentes áreas. **Health and Environment Journal**, v. 7, n. 2, dez. 06 AB, n. July, 2006.

SUCUPIRA, N. R. *et al.* Métodos Para Determinação da Atividade Antioxidante de Frutos. **UNOPAR Científica Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 14, n. 4, p. 263–269, 2014.

TACO. Tabela Brasileira de Composição de Alimentos. 4ª ed. Campinas: Núcleo de Estudos e pesquisas em Alimentação- UNICAMP, 161 p., 2011.

TANAKA, Y.; SASAKI, N.; OHMIYA, A. Biosynthesis of plant pigments: Anthocyanins, betalains and carotenoids. **Plant Journal**, v. 54, n. 4, p. 733–749, 2008.

TIVELLI, W. *et al.* Beterraba: do plantio à comercialização. **Série Tecnologia APTA, Boletim Técnico IAC 210.**, p. 51, 2011.

TOLENTINO JUNIOR, C. F.; ZÁRATE, N. A. H.; VIEIRA, M. DO C. Produção da mandioquinha-salsa consorciada com alface e beterraba. **Acta Scientiarum**, v. 24, n. 5, p. 1447–1454, 2002.

TONON, R. V. Secagem por atomização do suco de açaí: Influência das variáveis de processo, qualidade e estabilidade do produto. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2009.

TULI, H. S.; CHAUDHARY, P.; BENIWAL, V. Microbial pigments as natural color sources : current trends and future perspectives. **Food Science Technology**, v. 52, n.8 ,p. 4669–4678, 2015.

VIDOTTI, E. C.; COSTA, W. F.; OLIVEIRA, C. Development of a green chromatographic method for determination of colorants in food samples. **Talanta**, v. 68, p. 516–521, 2006.

VILA, M. M. D. C.; CHAUD, M. V.; BALCÃO, V. M. Microencapsulation of Natural Anti-Oxidant Pigments. **Microencapsulation and Microspheres for Food Applications**, p. 369–389, 2015.

VULIĆ, J. *et al.* Antioxidant and cell growth activities of beet root pomace extracts. **Journal of Functional Foods**, v. 4, n. 3, p. 670–678, 2012.

WIERNSPERGER, N. F. Oxidative stress as a therapeutic target in diabetes: revisiting the controversy. **Diabetes & Metabolism**, v. 29, p. 579–585, 2003.

WOOTTON-BEARD, P. C.; MORAN, A.; RYAN, L. Stability of the total antioxidant capacity and total polyphenol content of 23 commercially available vegetable juices before and after in vitro digestion measured by FRAP, DPPH, ABTS and Folin-Ciocalteu methods. **Food Research International**, v. 44, n. 1, p. 217–224, 2011.

ZAGHDOUDI, K. *et al.* Accelerated solvent extraction of carotenoids from : Tunisian Kaki ( *Diospyros kaki L.* ), peach ( *Prunus persica L.* ) and apricot ( *Prunus armeniaca L.* ). **Food Chemistry**, v. 184, p. 131–139, 2015.

## CAPÍTULO II

### **Avaliação da atividade antioxidante de pigmentos de beterraba (*Beta vulgaris*) em extrato alcóolico e na forma microencapsulada**

#### **2 INTRODUÇÃO**

A cor é um aspecto decisivo para aceitação dos alimentos pelo consumidor. Embora subjetiva, esta característica sensorial é fundamental na indução da sensação global resultante de outras características como o aroma, o sabor e a textura dos alimentos (CONSTANT; STRINGHETA; SANDI, 2002). Diversas formas de processamento industrial podem degradar características como a coloração dos alimentos e como medida corretiva, de reposição ou intensificação da cor perdida, recorre-se ao uso de pigmentos. Os pigmentos são adicionados com a finalidade de conferir cor aos alimentos despigmentados, restituir a cor original, reforçar cores já existentes ou tornar o alimento ainda mais atrativo (VOLP; RENHE; STRINGHETA, 2009).

Existem basicamente duas classes distintas de corantes direcionadas ao uso em alimentos, os sintéticos e os naturais. Na indústria, os corantes sintéticos são os mais utilizados em função da estabilidade e poder tintorial. No entanto, as ações legislativas que frequentemente proíbem o uso destes corantes sintéticos como aditivos em alimentos, bem como, a exigência do consumidor quanto à qualidade dos alimentos, têm aumentado o interesse no desenvolvimento de pesquisas a respeito de corantes naturais (ROCHA; REED, 2014).

Os corantes naturais possuem basicamente três fontes de obtenção os de origem vegetal (folhas, flores e frutos), animais (insetos) e micro-organismos (como fungos e bactérias). Na indústria de alimentos, os tipos de pigmentos naturais mais utilizados têm sido os extratos de urucum, carmim de cochonilha, curcumina, antocianinas e as betalaínas. Estes pigmentos além da coloração, se destacam pela bioatividade (CONSTANT; STRINGHETA; SANDI, 2002).

A principal fonte de betalaínas é a beterraba (*Beta vulgaris*), vegetal originário do Mediterrâneo que pertence à família Chenopodiaceae. Esta hortaliça é reconhecida pelo seu alto valor nutricional e pela presença de compostos bioativos principalmente em sua parte comestível, a raiz tuberosa. A beterraba é classificada como um dos 10 vegetais mais ricos em

bioatividade em função do alto teor de compostos fenólicos e das betalaínas, ambos conferem alto poder antioxidante à hortaliça (JANISZEWSKA, 2014).

Além das propriedades funcionais as betalaínas são responsáveis pela coloração vermelho-arroxeadada característica da beterraba. Estes pigmentos são compostos nitrogenados hidrossolúveis semelhantes às antocianinas e flavonóides e subdividem-se em duas classes: betacianina (responsável pela coloração avermelhada) e betaxantina (responsável pela coloração amarelada) (CUCHINSKI; CAETANO; DRAGUNSKI, 2010).

Segundo Drunkler (2006) as betalaínas são uma ótima alternativa de corante natural bioativo, no entanto, existem fatores que afetam a sua estabilidade limitando sua utilização na indústria. Os principais interferentes da estabilidade de pigmentos bioativos como as betalaínas são: pH, temperatura, oxigênio molecular, atividade de água, entre outros fatores que estão associados às condições de processamento às quais os alimentos são submetidos (XIAO et al., 2018).

A aplicação de pigmentos naturais que agregam características como a atividade antioxidante, antimicrobiana e anticarcinogênica que são bioatividades comuns é de interesse de estudo para a indústria e para consumidores. Estudos recentes mostram as vantagens da ingestão de alimentos com propriedades antioxidantes que levam a diminuição de doenças crônicas. Assim, técnicas que preservem da melhor forma pigmentos, como betalaínas, serão importantes, tanto para adicionar funcionalidades, como agregar valor à imagem do produto alimentício disponível para o consumidor (FALCÃO et al., 2007).

Uma das tecnologias utilizadas para preservação de compostos bioativos é a técnica de microencapsulação. O processo de microencapsulação consiste basicamente em revestir o ingrediente ativo com uma fina camada de um filme contínuo para formar partículas em tamanho micro, que manterá o composto ativo isolado e protegido de reações adversas, preservando o produto e por consequência aumentando sua vida útil (MATTE; DA ROSA, 2013). Dessa forma, a atividade antioxidante e cor das betalaínas pode vir a ser preservada por meio do processo de microencapsulamento e assim melhorar o rendimento e diminuir sua sensibilidade a fatores externos (XIAO et al., 2018).

Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivo obter o extrato de beterraba (*Beta Vulgaris*) e avaliar teor de betalaínas, fenólicos, flavonóides e atividade antioxidante, do

extrato, antes e depois da microencapsulação por atomização (*Spray Dryer*), utilizando como agentes carreadores maltodextrinas de dextroses equivalentes 15 e 20.

### **3 MATERIAIS E MÉTODOS**

As metodologias descritas no presente estudo foram desenvolvidas nos Laboratórios do Centro de Apoio à Pesquisa da Unidade Acadêmica de Garanhuns – CENLAG, nos Laboratórios de Ciência e Tecnologia de Alimentos – LACTAL/UAG/UFRPE e no Laboratório de Processamento do Departamento de Ciências Domésticas, na sede (DCD/UFRPE)- Recife-PE.

#### **3.1 Obtenção da Matéria-Prima**

As beterrabas vermelhas (*Beta vulgaris*) foram adquiridas, em lote único, em um supermercado local da cidade de Garanhuns-PE. Após a aquisição, as beterrabas foram mantidas sob refrigeração ( $5,0 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$ ) até o início das atividades experimentais.

#### **3.2 Preparação da Matéria-Prima**

As beterrabas selecionadas para o estudo foram higienizadas utilizando-se escova e água corrente para retirada de sujidades e em seguida foram submetidas a sanitização. A sanitização foi realizada conforme o descrito por Chitarra (2007), portanto, as amostras passaram por desinfecção com água clorada a 100 ppm de cloro ativado por 10 minutos para diminuir a carga microbiana na superfície das hortaliças, por fim as beterrabas foram enxaguadas em água corrente. Após a higienização, seguiu-se para etapa de obtenção do extrato de beterraba.

#### **3.3 Obtenção dos extratos de beterraba**

##### **3.3.1 Obtenção do Extrato Alcólico de Beterraba**

A obtenção do extrato ocorreu conforme o proposto por Cuchinski, Caetano e Dragunski, (2010), com modificações. Foram utilizados 50 g de beterraba *in natura*, previamente cortada em pedaços pequenos e foram trituradas com 100 mL de etanol a 70% (proporção 1:2 m/v) em um multiprocessador de alimentos (Dellar Platinum) por cerca de 30 segundos. Posteriormente, a mistura foi colocada ao abrigo da luz e permaneceu sob

refrigeração ( $5,0 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$ ) e foi deixada sob maceração por um período de 48 horas. Após esse período, o macerado foi filtrado a vácuo em papel-filtro para eliminação dos resíduos sólidos.

A fração líquida restante foi submetida a evaporação do etanol em evaporador rotativo (SL-126, Solab) a  $50^{\circ}\text{C}$  até atingir volume constante. As operações de extração foram realizadas várias vezes até a obtenção de volume suficiente para realização do estudo. As amostras obtidas foram homogeneizadas em um frasco âmbar e este foi mantido congelado ( $-18,0 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$ ) até o momento do uso.

### 3.3.2 Obtenção do Extrato da Beterraba *in natura*

Com o intuito de avaliar a eficiência da extração alcoólica foi obtido o extrato da beterraba *in natura*. As beterrabas, após lavadas e sanitizadas, foram cortadas e trituradas em um multiprocessador de alimentos para obtenção do extrato da beterraba *in natura*. A fração líquida restante foi filtrada à vácuo com papel-filtro para retirada de resíduos sólidos.

## 3.4 Caracterização dos extratos de beterraba

### 3.4.1 pH

O pH foi determinado por leitura em pHmetro digital (precisão  $\pm 0,01$  pH, MARCONI, PA 200), em equipamento previamente calibrado, por leitura direta (Instituto Adolfo Lutz, 2008).

### 3.4.2 Teor de Betalaínas

O conteúdo de betalaínas foi determinado conforme descrito por Stintzing et al. (2005). Primeiramente, a amostra foi diluída (quantas vezes necessárias) em solução de McIlvaine em pH 6,5 até obter uma leitura em espectrofotômetro entre 0,8 e 1,0 nos respectivos comprimentos de ondas para betaxantinas e betacianinas, conforme descrito pela Equação 1.

$$\text{BLC [mg/L]} = \frac{A \times DF \times MW \times 1000}{\epsilon \times l} \quad (\text{Equação 1})$$

Sendo A o valor da máxima absorbância corrigida pela leitura a 600 nm, DF é o fator de diluição e l o caminho ótico da cubeta (1 cm). Para a determinação dos conteúdos de betacianinas (Bc) e betaxantinas (Bx), os principais componentes das betalaínas na beterraba, a massa molar (MW) e o coeficiente de extinção molar ( $\epsilon$ ) da betanina (MW = 550 g/mol;  $\epsilon$  = 60,000 L mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup> por H<sub>2</sub>O;  $\lambda$  = 538 nm) e da xantina (MW = 308 g/mol;  $\epsilon$  = 48,000 L mol<sup>-1</sup>

$\text{cm}^{-1}$  por  $\text{H}_2\text{O}$ ;  $\lambda = 480 \text{ nm}$ ) serão aplicados, respectivamente. O conteúdo de betalaínas totais é a soma das betaxantinas e betacianinas presentes nas amostras.

### 3.4.3 Determinação do teor de compostos fenólicos totais

O teor de fenólicos totais foi estimado utilizando-se o reagente de Folin-Ciocalteu, a partir da metodologia proposta por Vieira (2011) e Swain e Hills (1959).

As amostras foram diluídas (quantas vezes necessárias) em água destilada. Em tubos de ensaio foram adicionados 0,5 mL do extrato diluído junto a 8,0 mL de água destilada, 0,5 mL do reagente de Folin-Ciocalteu e 1,0 mL de solução saturada de carbonato de sódio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) as amostras foram homogeneizadas em vórtex. A análise foi realizada em triplicata.

A mistura reacional foi mantida em repouso por 60 min na ausência de luz. A absorbância foi lida em espectrofotômetro UV-Vis a  $\lambda = 720 \text{ nm}$ . Os resultados obtidos foram interpretados em curva analítica de ácido gálico e expressos em  $\mu\text{g EAG/mL}$  da amostra (micrograma de Equivalente de Ácido Gálico por mL da amostra).

### 3.4.4 Determinação do teor de flavonoides

O teor de flavonoides totais foi quantificado a partir da metodologia proposta por Oliveira (2016) e Wolsky e Salatino (1998). As amostras foram diluídas (quantas vezes necessárias) em metanol P.A.

Em tubos de ensaio foram adicionados 2,0 mL da solução diluída, 1,0 mL da solução metanoica de cloreto de alumínio ( $\text{AlCl}_3$ ) a 5% (m/v) e 2,0 mL de metanol P.A. A mistura reacional foi homogeneizada em vórtex e mantida em repouso na ausência de luz por um período de 30 minutos, passado este tempo as amostras foram lidas em espectrofotômetro UV-Vis a  $\lambda = 420 \text{ nm}$ .

A análise foi realizada em triplicata e os resultados foram expressos em  $\mu\text{gEQ/mL}$  (microgramas de equivalente em quercetina por mililitros da amostra).

### 3.4.5 Avaliação da Atividade Antioxidante

#### *Método de captura do radical ABTS*

Para o extrato bruto, a determinação da atividade antioxidante *in vitro*, a partir do método de captura do radical 2,2 –azinobis-3-etilbenzoatiazolína-6-ácido sufônico (ABTS), a metodologia utilizada foi a descrita por Tseng et al. (2006) com modificações.

O cátion  $\text{ABTS}^+$  foi formado a partir da reação de soluções aquosas de 7 mM de ABTS e 2,45 mM de persulfato de potássio (1:1 v/v) por 16 horas, à temperatura ambiente e

na ausência de luz. Transcorrido esse tempo, a solução radical ABTS foi diluída em água destilada até obter uma absorbância de 0,700 ( $\pm 0,05$ ), a 734 nm. Alíquotas de 0,5 mL da amostra diluída em água destilada (quantas vezes necessárias) foram adicionadas em tubos de ensaio com 3,5 mL da solução do radical ABTS e em seguida a mistura foi lida a 734 nm, após 6 minutos no escuro.

Um controle negativo foi preparado, substituindo-se a água destilada no lugar da amostra. Os ensaios foram realizados em triplicata. A atividade antioxidante foi calculada em relação à atividade de eliminação do radical (%), de acordo com a Equação 2, descrita a seguir:

$$\text{Atividade antioxidante ABTS (\%)} = \frac{A_{\text{controle}} - A_{\text{amostra}}}{A_{\text{controle}}} \times 100 \quad (\text{Equação 2})$$

Sendo  $A_{\text{controle}}$  = branco e  $A_{\text{amostra}}$  = amostra.

#### *Método de captura do radical DPPH*

Para determinar a capacidade antioxidante *in vitro* a partir da técnica de captura do radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) utilizou-se a metodologia proposta por Brand-Willams (1995).

No preparo da solução de DPPH pesou-se 2,5 mg de DPPH e diluiu-se essa amostra em 100mL de metanol 80%, a solução foi homogeneizada em frasco âmbar e posteriormente foi utilizada na análise.

O extrato foi diluído (quantas vezes necessárias) em metanol 80%. Os constituintes da reação foram 0,5 mL do extrato diluído, 3,5 mL da solução metanoica de DPPH (25mg/L). A mistura foi mantida em repouso por 30 minutos ao abrigo da luz e a leitura das amostras foi efetuada em um espectrofotômetro UV-Vis a  $\lambda = 515$  nm. Os ensaios foram realizados em triplicata. A atividade antioxidante foi calculada em relação à atividade de eliminação do radical (%), de acordo com a Equação 3:

$$\text{Atividade antioxidante DPPH (\%)} = \frac{A_{\text{controle}} - A_{\text{amostra}}}{A_{\text{controle}}} \times 100 \quad (\text{Equação 3})$$

Sendo Acontrole = branco e Aamostra= amostra.

#### *Atividade quelante de cobre ( $\text{Cu}^{2+}$ )*

A atividade quelante de cobre foi realizada de acordo com metodologia descrita por Sánchez-Vioque et al. (2012), com poucas modificações. A mistura reacional de 2,0 mL de tampão acetato (50 mM a pH 6,0) e 50  $\mu\text{L}$  de  $\text{CuSO}_4$  (5 mM) foi adicionada a 500  $\mu\text{L}$  da amostra diluída no tampão de acetato (quantas vezes necessárias). Transcorridos 30 minutos de incubação à temperatura ambiente na ausência de luz, 50  $\mu\text{L}$  de violeta de pirocatecol (VP) a 4 mM foram adicionados aos ensaios, os quais foram homogeneizados em vórtex. Após mais 30 minutos, a absorbância dos ensaios foi mensurada a  $\lambda = 632$  nm, em espectrofotômetro UV-Vis. O procedimento foi realizado em triplicata. Como controle negativo, água destilada foi usada no lugar da amostra e no controle positivo utilizou-se EDTA (0,045%) no lugar da amostra. A atividade quelante de cobre foi calculada a partir do percentual de quelação do íon  $\text{Cu}^{2+}$  descrito pela Equação 4:

$$(\%) = \frac{A_{\text{controlenegativo}} - A_{\text{amostra}}}{A_{\text{amostra}}} \times 100 \quad (\text{Equação 4})$$

Sendo Acontrolenegativo = branco e Aamostra= amostra.

### **3.5 Microencapsulação dos Pigmentos da Beterraba**

Os agentes encapsulantes utilizados foram a maltodextrina com dextrose equivalente (DE) 15 e 20 MOR-REX® 1910, da Corn Products (Mogi-Guaçu, Brasil). As soluções alimentação do *Spray Dryer* foram preparadas com concentração final de 30% (m/v) antes da adição do extrato de beterraba.

O extrato alcoólico da beterraba foi adicionado aos materiais de parede, na proporção 1:3 (v/v), respectivamente. As misturas resultantes foram homogeneizadas em um agitador magnético, mantidas a 30 °C e posteriormente submetidas a secagem por atomização.

O microencapsulado foi obtido utilizando o secador por atomização Mini-Spray-Dryer LM modelo MSD 1.0 (LABMAQ do Brasil LTDA). - IDSO) – Piracicaba/SP), segundo condições proposta por Maia (2017), vazão do líquido 0,79 L/h, com bico injetor de 1,2 mm de diâmetro, fluxo de ar de 38 m<sup>3</sup>/h, pressão do ar 0,6 bar e temperatura de entrada de 150 °C e temperatura de saída de 91 °C. Os pós obtidos pelos diferentes materiais de parede foram

acondicionados em frascos de vidro âmbar, identificados e mantidos sob refrigeração ( $5,0 \pm 1,0^\circ\text{C}$ ).

### 3.5.1 Rendimento de microencapsulação

O rendimento do processo de microencapsulação foi avaliado conforme metodologia proposta por Su et al. (2008) e Wu et al. (2014) e calculado mediante a razão entre a massa das microcápsulas obtidas ao final do processo e a massa das substâncias iniciais adicionadas (extrato e materiais de parede).

### 3.5.2 Retenção de Betalaínas

A análise foi realizada de acordo com a metodologia proposta por Silva et al. (2013), adaptado. A retenção de betalaínas foi estimada por meio da comparação entre o teor de pigmentos presentes na solução alimentação antes do processo de atomização e a quantidade dos pigmentos resultantes nos pós.

A reconstituição do pó foi realizada através da diluição dos pós microencapsulados em solução tampão de McIlvaine. As soluções foram centrifugadas a 3000 rpm por cerca de 10 min e em seguida procedeu-se com a determinação do teor de betalaínas de acordo com o item 3.3.4.

### 3.5.3 Avaliação dos Pigmentos Microencapsulados

As análises realizadas nos extratos de beterraba também foram realizadas nos pós microencapsulados em maltodextrina de 15 e de 20 DE. Para as análises nos pós do extrato microencapsulado da beterraba, a metodologia utilizada foi a proposta por (SARDELLA, 2016). As amostras em pó foram reconstituídas mantendo-se a proporção de sólidos presentes no extrato bruto líquido. A partir de um balanço de massa, levando-se em consideração a concentração de sólidos totais das cápsulas, a quantidade de água e sólidos solúveis do extrato foram determinadas as devidas proporções de solvente e pó necessárias para reconstituição.

Para realização das análises os pós foram reconstituídos em solução tampão de McIlvaine de pH 6,5, a mistura foi homogeneizada em agitador mecânico tipo vórtex. Antes das análises de teor de betalaínas, determinação de compostos fenólicos totais, flavonoides, ABTS, DPPH e quelantes de cobre (itens 3.4.2, 3.4.3, 3.4.4, 3.4.5 respectivamente) os pós reconstituídos de maltodextrina de 15 e 20 DE foram centrifugados por cerca de 20 min a 3500 rpm a fim de eliminar a turvação proveniente da incompleta solubilização dos materiais de parede em solução. Após a diluição realizada para cada uma das análises as amostras

foram submetidas novamente à centrifugação, por 10 minutos a 3500 rpm. As misturas reacionais também foram centrifugadas (5 minutos a 3500 rpm) para garantir que as amostras estivessem límpidas para análise em espectrofotômetro.

#### 3.5.4 Análise de Cor

A quantificação da cor foi realizada a partir de um colorímetro da marca Konica Minolta CR-10, previamente calibrado com as cores branco e preto padrão. O colorímetro indicou os parâmetros  $L^*$ (luminosidade),  $a^*$ (vermelho-verde), e  $b^*$ (amarelo-azul) (SARDELLA,2016).

Os parâmetros de tonalidade ( $h^*$ ) e saturação ( $c^*$ ) foram calculados a partir dos valores de  $a^*$  e  $b^*$ , conforme as equações 5 e 6, respectivamente.

$$h^* = \arctan\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \quad (\text{Equação 5})$$

$$c^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad (\text{Equação 6})$$

Para se calcular a diferença global de cor ( $\Delta E$ ), foi realizada a reconstituição do extrato solubilizando-se o extrato de beterraba microencapsulado em tampão de McIlvaine, a fim de se obter o mesmo teor de sólidos do extrato antes da atomização. A diferença global de cor entre o extrato antes da atomização e o pó reconstituído será obtido pela Equação 7.

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

### 3.6 Análise de Dados

Os dados obtidos das triplicatas das análises foram analisados estatisticamente por meio de Teste de T-Student, ao nível de significância de 5%, com auxílio do software Minitab v 17.1.0.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Teor de betalaínas, fenólicos e flavonoides da beterraba *in natura* e do extrato alcóolico

Os resultados referentes ao pH, teor de betalaínas, de compostos fenólicos e flavonoides do extrato de beterraba *in natura* e do extrato alcóolico de beterraba estão apresentados na Tabela 1.

Para o pH do extrato de beterraba *in natura* obteve-se o valor de 5,90, semelhante aos resultados reportados nos trabalhos de Ramos et al.(2014) e Ferreira (2018), para beterraba *in natura*, que foram de 5,87 e 5,920, respectivamente. Cuchinski, Caetano e Dragunski (2010) relataram em seu trabalho que entre pH 4 e 5 as betalaínas são estáveis e sob pH 5 a 7 são razoavelmente estáveis.

**Tabela 1.** Teor de betalaínas, fenólicos e flavonoides para o extrato de beterraba *in natura* e do extrato alcóolico de beterraba.

Análises	Extrato de beterraba <i>in natura</i>	Extrato alcóolico de beterraba
pH (25 °C)	5,90 ± 0,0058 <sup>a</sup>	5,55 ± 0,0058 <sup>b</sup>
Betalaínas totais (mg/100g)	38,75 ± 0,0156 <sup>b</sup>	44,96 ± 0,0206 <sup>a</sup>
Fenólicos totais (µg EAG/mL)	886,88 ± 0,00 <sup>b</sup>	1101,7 ± 0,994 <sup>a</sup>
Flavonoides (µg EQ/mL)	309,03 ± 1,58 <sup>b</sup>	348,47 ± 1,41 <sup>a</sup>

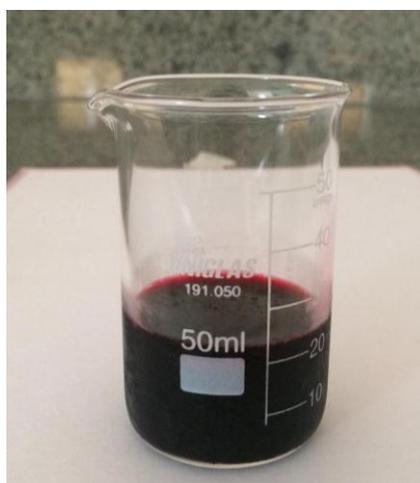
Médias seguidas de mesmo expoente na mesma linha, não diferem estatisticamente a um nível de 5% pelo teste t-Student. Fonte: Autor, 2019.

O pH do extrato alcóolico de beterraba foi de 5,55 e, quando comparado ao obtido para o extrato de beterraba *in natura*, apresentaram diferenças significativas. Entretanto, nota-se que os valores de pH encontrados para ambas amostras foram superiores a 5,5. Segundo Huang e Elbe (1987), na faixa de pH de 5,5 a 5,8 ocorre a máxima estabilidade de betalaínas sob condições aeróbias, além disso, representa que este parâmetro não demonstrou alteração drástica após o processo de extração, característica importante visto que o pH interfere diretamente na estabilidade desses pigmentos.

O extrato alcóolico de beterraba (Figura 4) apresentou teor de betalaínas de 44,96 mg/100g (Tabela 1). Sanchez-Gonzalez et al.(2013) relataram teor de betalaínas de 40-77 mg/100g em extratos de beterraba comercial, obtido por meio de diferentes proporções de

metanol, água e ácido acético. Sardella (2016) reportou em sua pesquisa valor de 288 mg//100g. Por outro lado, Azeredo et al (2007) encontraram valor de 28,82 mg/100g para extrato de beterraba obtido a partir de solução aquosa de ácido cítrico e Pitalua (2010) 13,58 mg/100g em extrato de beterraba filtrado, ambos valores inferiores ao encontrado pelo presente trabalho. As condições de extração nos trabalhos, tais como tipo de solvente de extração, ajuste no teor de sólidos solúveis, cuja etapa não foi realizada no presente estudo, bem como fatores atrelados ao cultivo do vegetal, podem justificar a diferença entre os resultados.

**Figura 4.** Extrato alcoólico de beterraba



Fonte: Autor, 2019.

Já em relação a matéria-prima, Stintzing e Carle (2007) verificaram que a faixa normalmente encontrada de teor de betalaínas encontrado em beterraba vermelha varia entre 40 a 160 mg/100g em base úmida (b.u.), no presente estudo encontrou-se um valor de 38,75 mg/100g para o extrato de beterraba *in natura*.

De acordo com os resultados de betalaínas obtidos para o extrato de beterraba *in natura* e para o extrato alcoólico, foi possível observar que o método de extração sólido-líquido, utilizando etanol 70%, foi eficiente para extração destes pigmentos, visto que o extrato de beterraba apresentou uma maior concentração em relação à matéria-prima que o originou. Segundo Shiozer e Barata (2007), dentre os solventes mais utilizados para extração de betalaínas estão os solventes orgânicos, destacando-se a extração por etanol.

Além das betalaínas, a beterraba contém outros constituintes importantes como os compostos fenólicos, que são constituídos por ácidos fenólicos, ésteres de ácido fenólico e flavonoides, entre outros (BEN et al., 2014). Em relação ao teor de compostos fenólicos, nota-se que houve diferença significativa entre as amostras de extrato de beterraba *in natura* e extrato alcóolico de beterraba que apresentaram teor de fenólicos de 886,88 e 1101,7 µg EAG/mL, respectivamente (Tabela 1).

No geral, os fenólicos apresentam alta polaridade e, portanto, a solubilidade desses compostos fica sujeita a fatores como a polaridade dos solventes utilizados, grau de polimerização demais constituintes dos alimentos (ANGELO; JORGE, 2007).

Devido a variabilidade da estrutura, ainda não se tem conhecimento de um método satisfatório para a extração de todos ou de uma classe específica de fenólicos disponível nos alimentos. Entretanto, a técnica de extração por solvente é a mais comum na literatura para extração desses fitoquímicos. Os solventes mais utilizados para a extração destes compostos são metanol, etanol, acetona, água, acetato de etila entre outros (ANGELO; JORGE, 2007).

O maior teor de compostos fenólicos encontrado no presente estudo pelo extrato de beterraba em relação ao extrato de beterraba *in natura* pode ser justificado pela escolha do solvente etanol, que em função da sua polaridade foi eficiente na extração dos compostos fenólicos presentes na beterraba vermelha. Os tecidos da beterraba possuem alto teor de água, assim, o etanol se liga a água por meio da ligação polar OH- e devido à alta atração entre as moléculas formam-se pontes de hidrogênio contribuindo para a elevada solubilidade do meio favorecendo a eficiência da extração (ALVES; MONTEIRO; POMPEU, 2018).

No estudo realizado por Kazimierczak et al.(2014) avaliou-se o conteúdo fenólico de beterraba e suco de beterraba naturalmente fermentado proveniente de produção orgânica e convencional, utilizando a técnica de HPLC (cromatografia líquida de alta performance). Em ambos ensaios obteve-se alto teor de fenólicos. Entretanto, destaca-se o superior teor de compostos fenólicos totais das beterrabas obtidas da produção convencional em relação à produção orgânica, tipo de matéria-prima utilizada no presente trabalho.

Čanadanović-Brunet, et al.(2011) avaliam a atividade antioxidante e antimicrobiana em extrato de bagaço de beterraba em diferentes tipos de solventes (solução aquosa de etanol , solução aquosa de acetona e água) após a purificação por extração em fase sólida. Os maiores resultados para compostos fenólicos e flavonoides foram os encontrados nos extratos obtidos

a partir etanol (80%), os valores foram respectivamente, 376,4 mg EAG/g de extrato seco e 253, 5 mg/g (mg de rutina por grama de extrato seco).

Dentre as principais classes de compostos fenólicos destacam-se os flavonoides, compostos largamente distribuídos entre as espécies vegetais e tem como principal característica o baixo peso molecular (ANGELO; JORGE, 2007; SILVA et al. 2010). O extrato alcoólico de beterraba apresentou maior teor de flavonoides em relação ao extrato de beterraba *in natura*, resultado esperado visto que o teor de fenólicos totais para o extrato alcoólico apresentou este mesmo padrão.

#### 4.2 Avaliação da atividade antioxidante no extrato alcóolico e no extrato de beterraba *in natura*

Os resultados obtidos da avaliação do potencial antioxidante do extrato da beterraba *in natura* e do extrato alcóolico da beterraba encontram-se na Tabela 2.

**Tabela 2.** Resultados das análises de DPPH, ABTS e Quelantes de  $\text{Cu}^{2+}$  para o extrato de beterraba *in natura* e extrato alcóolico de beterraba.

Análise	Extrato de beterraba <i>in natura</i>	Extrato de Beterraba
DPPH (%)	45,84± 0,01 <sup>b</sup>	63,85± 0,01 <sup>a</sup>
ABTS (%)	92,54±0,00 <sup>b</sup>	95,53±0,00 <sup>a</sup>
Quelante de $\text{Cu}^{2+}$ (%)	76,04±0,01 <sup>b</sup>	80,30±0,00 <sup>a</sup>

Médias seguidas de mesmo expoente na mesma linha, não diferem estatisticamente a um nível de 5% pelo teste t-Student. \*Amostras beterraba *in natura* e extrato de beterraba diluídas 1:10 para DPPH e ABTS, 1:20 para análise de quelante de cobre Fonte: Autor, 2019.

Todos os resultados das análises de DPPH, ABTS, quelantes de  $\text{Cu}^{2+}$  apresentaram diferenças significativas entre as amostras do extrato de beterraba *in natura* e extrato de beterraba. Entretanto, observa-se que as amostras de extrato alcóolico de beterraba obtiveram os maiores percentuais de inibição para todas as análises comparados às amostras do extrato de beterraba *in natura*.

Os resultados da atividade antioxidante pelo método de ABTS foram superiores aos encontrados por DPPH. O radical livre DPPH é adquirido em sua forma pronta para uso, enquanto o ABTS é gerado por reações químicas ou enzimáticas, e, pode ser solubilizado em meios aquosos ou orgânicos. Assim, a atividade antioxidante pode ser mensurada em função

da natureza hidrofílica ou lipofílica dos compostos nas amostras. Em contraste, o radical DPPH é dissolvido apenas em meios orgânicos o que é uma limitação na avaliação dos antioxidantes hidrofílicos (ARNAO, 2001). Estas peculiaridades podem justificar os maiores percentuais de inibição dos radicais ABTS pelos extratos em relação à análise de DPPH, visto que os pigmentos da beterraba são hidrossolúveis.

Wootton-Beard et al. (2011) avaliaram a atividade antioxidante total de sucos vegetais comerciais por FRAP, DPPH, ABTS e Folin-Ciocalteu (Fenólicos Totais). Este estudo destacou o suco de beterraba como o que possuía maior atividade antioxidante e maior percentual de inibição dos radicais ABTS e DPPH. Tiveron (2010) encontrou percentual de inibição de 85,1 % em extrato alcoólico (etanol 80%) de beterraba liofilizada, diluído na proporção 1:5, que comparado à diluição do presente trabalho, pode-se afirmar que os valores são equivalentes aos encontrados para extrato de beterraba *in natura* e extrato alcoólico de beterraba .

Delgado-Vargas et al. (2000) em seu trabalho ressaltaram que o uso de solventes orgânicos tem sido bastante recomendado na literatura para extração eficiente de betacianinas, as quais possuem significativa atividade antioxidante. O extrato alcoólico de beterraba também apresentou maior teor de betalainas em sua composição em relação ao extrato da beterraba *in natura*, o que evidencia o processo eficiente de extração e justifica o maior potencial antioxidante do extrato de beterraba. Čanadanović-Brunet et al.(2011), verificaram a atividade antioxidante em extrato de bagaço de beterraba extraído a partir de três solventes diferentes etanol, água e acetona . Os melhores resultados de atividade antioxidante a partir do ensaio de DPPH foram obtidos dos extratos de etanol e acetona.

A amostra de extrato de beterraba apresentou 80,3% de inibição por quelação de cobre, indicando maior atividade antioxidante em relação ao extrato de beterraba *in natura* seguindo a tendência das análises de ABTS e DPPH (Tabela 2). O resultado da avaliação de atividade antioxidante por quelantes de cobre indica que o extrato alcoólico de beterraba possui maior quantidade de substâncias com ação de quelar os íons de cobre. Tais metais de transição como  $\text{Cu}^{2+}$ , têm a capacidade de catalisar a reação de radicais livres e, conseqüentemente, favorece reações como peroxidação lipídica e danos ao DNA. Portanto, esta avaliação é importante para mensurar a “quelação” de íons de metais de transição por antioxidantes já que estes impediriam a reação de oxidação. O maior percentual dado pela

análise indica que houve maior ação de antioxidantes em impedir a ação de oxidação por íons de  $\text{Cu}^{2+}$  (ZHANG et al., 2011).

Costa (2016) avaliou a atividade antioxidante por DPPH e quelante de cobre do extrato etanólico das folhas, caule e raízes da espécie *Hyptis pectinata*. Na análise da atividade por quelantes de cobre realizada por meio da mesma metodologia do presente trabalho, os resultados obtidos não foram significativos, pois não ocorreu mudança na coloração das amostras após a adição de cobre, apesar de outras análises constatarem tal atividade no extrato. Diferentemente deste caso, no presente trabalho obteve-se relação positiva entre a análise de quelantes de cobre e as análises de ABTS e DPPH.

O extrato alcoólico de beterraba apresentou alto teor de compostos fenólicos (1101,7  $\mu\text{g}$  EAG/mL) e flavonoides (348,47  $\mu\text{g}$  EQ/mL), substâncias que possuem poder antirradicalar e isto também pode justificar a maior atividade antioxidante deste extrato como discutido na seção anterior. Zardo (2014) em sua pesquisa, relacionou o maior poder antioxidante de compostos antocianínicos obtidos de bagaço de mirtilo ao alto teor de compostos fenólicos totais. Wu et al., (2004) também faz essa observação em seu trabalho onde avaliaram a atividade antioxidante e o conteúdo polifenólico de diversas frutas e hortaliças.

#### **4.3 Avaliação de pós do extrato de beterraba microencapsulados com maltodextrina de 15 DE e 20 DE**

A Tabela 3 apresenta os resultados obtidos das análises de atividade antioxidante no extrato alcoólico de beterraba microencapsulado com maltodextrina de 15 DE e 20 DE, amostra PM15 e PM20, respectivamente. As análises foram realizadas no pó reconstituído em solução tampão de McIlvaine (Figuras 5 e 6).

O teor de fenólicos totais encontrado para amostra PM15 foi de 1118,9  $\mu\text{g}$  EAG/mL, valor superior ao encontrado para o pó encapsulado com maltodextrina de 20 DE (938,96  $\mu\text{g}$  EAG/mL) e superior ao encontrado no extrato alcoólico de beterraba (1101,7  $\mu\text{g}$  EAG/mL) (Tabela 3).

**Tabela 3.** Resultados das análises de atividade antioxidante DPPH, ABTS, Quelantes de  $\text{Cu}^{2+}$ , fenólicos totais, flavonoides e retenção das betalaínas nos pós microencapsulados com maltodextrina de 15 DE (PM15) e 20 DE (PM20).

Análise	PM15*	PM20*	Extrato Alcoólico de Beterraba
<b>Fenólicos totais (<math>\mu\text{g}</math> EAG/mL)</b>	1118,9 $\pm$ 2,76 <sup>a</sup>	938,96 $\pm$ 1,60 <sup>c</sup>	1101,7 $\pm$ 0,994 <sup>b</sup>
<b>Flavonóides (<math>\mu\text{g}</math> EQ/mL)</b>	20,96 $\pm$ 0,58 <sup>b</sup>	17,70 $\pm$ 0,35 <sup>b</sup>	348,47 $\pm$ 1,4 <sup>a</sup>
<b>Retenção de Betalaínas (%)</b>	104,31 $\pm$ 0,00	87,20 $\pm$ 0,00	-
<b>DPPH (%)</b>	40,21 $\pm$ 0,00 <sup>b</sup>	39,15 $\pm$ 0,00 <sup>b</sup>	63,85 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>
<b>ABTS (%)</b>	98,46 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>	99,12 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>	95,53 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>
<b>Quelante de <math>\text{Cu}^{2+}</math> (%)</b>	87,78 $\pm$ 0,00 <sup>b</sup>	89,18 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>	80,30 $\pm$ 0,00 <sup>c</sup>

Médias seguidas de mesmo expoente na mesma linha, não diferem estatisticamente a um nível de 5% pelo teste t-Student. \* Amostras PM15 e PM20 diluídas em 1:3 flavonoides, DPPH e ABTS, 1:10 para análise de quelante de cobre e extrato da beterraba 1:20. Fonte: Autor, 2019.

**Figura 5.** Extrato de beterraba microencapsulado com maltodextrina de 15 DE (a) Pó microencapsulado com maltodextrina de 15 DE reconstituído (b).

a) Pó (PM15)



b) Pó Reconstituído (PM15)



Fonte: Autor, 2019

**Figura 6.** (a) Extrato de beterraba microencapsulado com maltodextrina de 20 DE (b) Pó microencapsulado com maltodextrina de 20 DE reconstituído.

a) Pó (PM20)



b) Pó Reconstituído (PM20)



Fonte: Autor, 2019

A determinação do teor de compostos fenólicos é relevante tendo em vista que diversos estudos têm associado estes compostos à atividade antioxidante. Os compostos fenólicos compõem uma grande classe de fitoquímicos englobando moléculas que em sua estrutura química apresentam hidroxilas e anéis aromáticos tanto em sua forma simples como em polímeros, esta característica confere o poder antioxidante destes compostos (ANGELO; JORGE, 2007).

A análise de compostos fenólicos totais foi realizada utilizando o reagente de Folin-Ciocalteu este é constituído pelos sais tungstato de sódio e molibdato de sódio em meio a ácido clorídrico concentrado e ácido fosfórico. Na presença de espécies redutoras como, por exemplo, compostos fenólicos estes sais são reduzidos à complexos de molibdênio-tungstênio que desenvolvem uma coloração azul proporcional a quantidade de hidroxilas ou grupos potencialmente oxidáveis nos compostos fenólicos. Este ensaio detecta a presença de todas as espécies reduzidas pelo Folin-Ciocalteu, assim não reflete necessariamente o teor de compostos fenólicos totais. Por se tratar de um método não específico, compostos como vitamina C, açúcares ou minerais podem ser interferentes da reação (ANGELO; JORGE, 2007; BOROSKI, 2015). Portanto, algum interferente como estes pode ter influenciado na análise visto que o teor de fenólicos na amostra PM15 DE foi superior ao do extrato.

O teor de flavonoides entre as amostras de pós PM15 e PM20 não apresentou diferença estatisticamente significativa. No entanto, observa-se grande diferença em relação ao extrato. Infere-se que os flavonoides, representante de uma classe de compostos fenólicos, presentes nos pós podem ter sofrido ação do calor durante o processo de microencapsulação, tendo em vista que alguns flavonoides podem se degradar em altas temperaturas (ESCRIBANO - BAILÓN et al., 2004).

Os extratos microencapsulados PM15 e PM20 mostraram atividade antioxidante em todos os ensaios DPPH, ABTS e Quelantes de  $\text{Cu}^{2+}$  (Tabela 3). No entanto, para o ensaio de atividade antioxidante por DPPH, obteve-se diferenças significativas entre as amostras PM15 e PM20, quando comparado aos resultados do extrato alcoólico de beterraba. Esta situação é comumente citada na literatura, onde relata-se a perda de atividade antioxidante em consequência do processo de atomização em função da alta temperatura fornecida ao material microencapsulado na entrada e na saída do *spray dryer*. O aumento da temperatura de entrada no atomizador como efeito danoso à bioativos é relatado por Ersus e Yurdargel (2007), que observaram a diminuição do teor e retenção de antocianinas, situação também observada por Cai e Corke (2000) em relação à microencapsulação de betalaínas.

Observou-se também que as amostras de pó microencapsulados com maltodextrina de 15 DE e 20 DE mostraram diferenças estatísticas significativas na avaliação da atividade antioxidante por quelante de cobre. Os ensaios de DPPH e ABTS demonstram que não houve diferenças entre os potenciais antioxidantes entre as duas amostras, entretanto, estas duas análises avaliam a atividade antioxidante por meio da transferência simples de elétrons. O ensaio para determinar a atividade quelante de  $\text{Cu}^{2+}$  é baseado na quelação deste íon metálico com violeta de pirocatecol que produz um complexo de coloração azul. Na presença de outros agentes quelantes a formação do complexo é interrompida e a cor azul tende a diminuir. Esta taxa de redução de cor permite, portanto, mensurar a atividade quelante (SÁNCHEZ-VIOQUE et al., 2012) que, para ambas as amostras, extrato microencapsulado com maltodextrina de 15 DE e 20 DE, apresentaram alto percentual de inibição, superior a 85%.

#### 4.3.1 Rendimento da microencapsulação

O sucesso do processo de encapsulação de substâncias bioativas deve resultar em um pó microencapsulado com a máxima retenção do material bioativo no interior das microcápsulas (WU, et al., 2014). O rendimento da microencapsulação avalia a viabilidade do processo a partir da determinação da eficiência em recuperar o pó do sistema, ao final do

processo de secagem, sobre a quantidade de sólidos solúveis contidos nas amostras, inicialmente (TUPUNA et al., 2018).

Os rendimentos obtidos por meio do processo de microencapsulação do extrato de beterraba foram de 16,889 e 14,767%, para as maltodextrinas de 15 e 20 DE, respectivamente. Valores semelhantes ao presente trabalho foram encontrados por Poornima e Sinthiya (2017), que encontram rendimentos entre 15 e 20% no processo de microencapsulação de beterraba por *spray dryer* em que variaram as proporções de extrato, material de parede e temperatura de entrada no atomizador.

Bazaria e Kumar (2017) em seu estudo afirmaram que um rendimento satisfatório deve ser superior a 50% e para microencapsulação de suco de beterraba por atomização obtiveram valores de 67,38 e 62,43 % para maltodextrinas de 10 e 20 DE, respectivamente, com isso infere-se que os valores obtidos no presente trabalho foram consideravelmente baixos. O baixo rendimento pode ser explicado principalmente pela aderência de gotículas semi-úmidas nas paredes da câmara de secagem, da aderência de pó nas paredes do filtro do ciclone e da difícil recuperação do pó neste local.

Gharsallaoui et al. (2007) e Kaimainen, (2014) salientam também que o rendimento do processo de secagem por atomização é influenciado por condições ótimas de secagem e a eficiência da microencapsulação está relacionada a escolha adequada de material encapsulante e às características físico-químicas do material de núcleo.

#### 4.3.2 Retenção de Betalaínas

A eficiência do processo de encapsulação de substâncias bioativas está diretamente ligado à máxima retenção do composto bioativo dentro das microcápsulas (WU et al., 2014). Os pós microencapsulados, em maltodextrina de 15 DE e 20 DE, apresentaram 104,31 % e 87,2 % de retenção das betalaínas, respectivamente, ao final da secagem por atomização. Oliveira (2011) em sua pesquisa relata a retenção entre 88,95 a 107,98 % de antocianinas dos extratos de capim-gordura obtidos por secagem por atomização submetidos a diferentes temperaturas de entrada e de saída do *spray dryer*. Azeredo et al (2007) reportaram retenção de 90% de betalaínas microencapsuladas em diferentes proporções maltodextrina de 10DE.

Ersus e Yurdagel (2007), no processo de microencapsulação de cenoura preta observaram a melhor condição para retenção de antocianinas com o uso de maltodextrina de 20 DE associada à temperatura de entrada de 160 °C. Pitalua et al. (2010) em sua pesquisa

reportaram retenção de 88,2% de betalaínas obtidas pelo processo de microencapsulação de suco de beterraba utilizando goma arábica como material de parede, resultado semelhante do presente trabalho. Cai e Corke (2000) em seu estudo obtiveram retenção de 88 % de betacianinas obtidas de pós amarantho seco em *spray dryer*.

Assim como nos trabalhos relatados, tais resultados demonstram que houve pouca perda do pigmento durante o processo de microencapsulamento no presente estudo, com uma maior eficiência para o pó microencapsulado com maltodextrina de 15DE. Observou-se também (Tabela 3), que esta amostra apresentou alto teor de compostos fenólicos, o que pode ter implicado na alta retenção de betalaínas observada, em virtude de uma possível presença de compostos com absorção dentro do mesmo comprimento de onda das betalaínas.

#### 4.4 Análise de cor

Os resultados das medidas de cor dos extratos de beterraba microencapsulados por *spray dryer* são apresentados na Tabela 4.

**Tabela 4.** Parâmetros da análise de cor nos pós microencapsulados.

Análise da cor	PM15	PM20
L*	28,033 ± 0,416 <sup>b</sup>	31,800 ± 0,819 <sup>a</sup>
a*	9,733 ± 1,474 <sup>a</sup>	10,667 ± 0,896 <sup>a</sup>
b*	-0,400 ± 0,624 <sup>a</sup>	-0,300 ± 0,693 <sup>a</sup>
H°	-2,549 ± 3,809 <sup>a</sup>	-1,505 ± 3,766 <sup>a</sup>
C*	9,756 ± 1,462 <sup>a</sup>	10,686 ± 0,898 <sup>a</sup>
ΔE	8,693 ± 1,604 <sup>a</sup>	4,278 ± 0,888 <sup>b</sup>

Médias seguidas de mesmo expoente na mesma linha, não diferem estatisticamente a um nível de 5% pelo teste t-Student. Fonte: Autor, 2019.

Para a variável L\*, os valores obtidos foram de 28,033 e 31,8 para as amostras encapsuladas com maltodextrina de 15 e 20 DE (Figura 7), cujos valores apresentaram diferenças significativas a um nível de 5%. O parâmetro L\* expressa a luminosidade da amostra e varia de 0 e 100 deste modo, quanto mais próximo de 100, mais clara é a amostra e quanto mais distante, mais escura (SANT'ANNA et al., 2013). Dito isto, pode-se inferir que a amostra PM20 apresentou maior luminosidade, logo possui coloração mais clara em relação a amostra PM15.

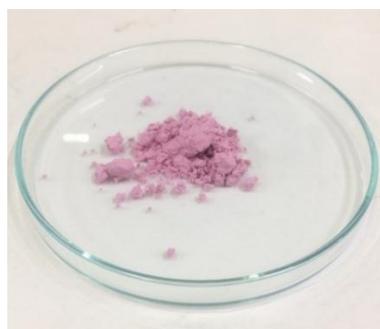
Ersus e Yurdagel, (2007) observaram um aumento nos valores do parâmetro  $L^*$  de acordo com o decréscimo de DE em amostras de antocianinas extraídas da cenoura preta e encapsuladas com maltodextrinas 10 DE, 20 DE e 30 DE, resultados estes diferentes ao observado no presente trabalho. O que pode estar relacionado com a característica química do extrato microencapsulado e sua interação com a molécula da maltodextrina.

**Figura 7.** Extrato de beterraba microencapsulado com maltodextrina de 15 DE (a) e 20 DE (b).

(a) PM15



(b) PM20



Fonte: Autor, 2019.

As variáveis  $a^*$  e  $b^*$  para ambas as amostras de pó não apresentaram diferenças significativas entre si. Valores positivos de  $a^*$  indicam a tendência à coloração vermelha e negativos, coloração verde. A coordenada  $b^*$  mede a tendência para as cores amarela e azul, onde valores positivos expressam maior intensidade de amarelo e os negativos maior intensidade para azul (PATHARE; OPARA; AL-SAID, 2013).

O ângulo de tonalidade cromática ( $H^\circ$ ) afere a percepção de cor, quanto menor o ângulo  $H^\circ$ , mais próximo estará do eixo  $a^*$  e, portanto, mais vermelha será a coloração do material avaliado (PATHARE; OPARA; AL-SAID, 2013; SANT'ANNA et al., 2013). O  $H^\circ$  verificado nas amostras apresentou valores de -2,549 e -1,505, para os pós encapsulados com maltodextrinas de 15 DE e 20 DE, respectivamente e não apresentaram diferenças estatísticas entre si (Tabela 4).

Os valores de  $C^*$  representam a intensidade cromática de uma cor particular (saturação) e quanto maior o seu valor, mais intensa a cor do produto (PATHARE; OPARA; AL-SAID, 2013). Este parâmetro não apresentou diferenças significativas entre as amostras.

O resultado obtido para a variável C\* no presente trabalho de 9,756 e 10,686 para pó encapsulado com maltodextrina de 15 DE e 20 DE, respectivamente. Ravichandran et al., 2014 em sua pesquisa sobre obtenção de pós de extrato de beterraba por *spray drying* utilizando maltodextrina de 20 DE, reporta um valor para C\* de 12,5, próximo ao encontrado no presente estudo.

O valor de  $\Delta E$  expressa a diferença global de cor, este parâmetro leva em consideração as variações de L\*, a\* e b\* (SANT'ANNA et al., 2013). Os valores de  $\Delta E$  para os pós microencapsulados com maltodextrinas de 15 e 20 DE foram de 8,693 e 4,278, em relação à solução alimentação de cada pó, nesta ordem (Tabela 4). A amostra de maltodextrina de 15 DE apresentou a maior diferença global, após o processo de atomização.

O valor da diferença de cor é uma avaliação importante na técnica de microencapsulamento de pigmentos, visto que avalia a manutenção da cor da matriz original com a cor obtida no produto final. Assim, é desejável que haja uma menor diferença global de cor entre as amostras. Todavia, isso irá depender de fatores relacionados ao processo e a interação entre o extrato e o material de parede.

## 5 CONCLUSÃO

Estudos a respeito do uso de extrato da beterraba como corantes naturais e, principalmente, como fonte de compostos antioxidantes ainda são escassos.

O processo de extrativo de sólido-líquido foi eficiente para extração dos bioativos presentes na beterraba visto que o extrato alcóolico apresentou maiores resultados em todos os ensaios de atividade antioxidante, compostos fenólicos totais e flavonoides, em relação à matéria-prima de origem.

O presente trabalho pôde comprovar que, por meio de análises *in vitro*, a bioatividade dos pigmentos da beterraba conseguiu ser preservada mesmo após condições de processamento do *spray dryer*.

Em relação aos materiais de parede utilizados para microencapsular o extrato alcóolico de beterraba, ambos materiais (maltodextrina 15 DE e 20 DE) foram eficientes na preservação das betalaínas, bem como na capacidade antioxidante, verificado nos ensaios de inibição do ABTS e quelação de cobre. Já em relação ao rendimento do processo, para o pó encapsulado com maltodextrina de 15 DE obteve-se um maior valor em relação ao encapsulado com 20

DE, indicando que a maltodextrina de 15 DE apresentou melhor aplicabilidade à microencapsulação do extrato e secagem por *spray dryer*.

Assim, a alta retenção de pigmentos em ambas amostras de pós microencapsulados infere que a atividade antioxidante fornecida pelas betalaínas e o poder tintorial desses pigmentos foi mantido, evidenciando que a técnica de microencapsulação é uma alternativa viável para a proteção desses pigmentos.

## REFERÊNCIAS

- ALVES, A. C. B.; MONTEIRO, L. B.; POMPEU, D. R. Otimização da extração sólido-líquido de compostos fenólicos totais e betalaínas da casca de frutos de pitaya ( *Hylocereus polyrhizus* ). **Revista brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 12, n. 1, p. 2556–2577, 2018.
- ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – uma breve revisão. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v. 66, n. 1, p. 1–9, 2007.
- ARNAO, M. B. Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals: A practical case. **Trends in Food Science and Technology**, v. 11, n. 11, p. 419–421, 2001.
- AZEREDO, H. M. C. et al. Betacyanin stability during processing and storage of a microencapsulated red beetroot extract. **American Journal of Food Technology**, 2007.
- AZEREDO, H. M. C. Original article Betalains : properties , sources , applications , and stability – a review. p. 2365–2376, 2009.
- BAZARIA, B.; KUMAR, P. Effect of dextrose equivalency of maltodextrin together with Arabic gum on properties of encapsulated beetroot juice. **Journal of Food Measurement and Characterization**, v. 11, n. 1, p. 156–163, 2017.
- BEN, H. et al. Betalain and Phenolic Compositions , Antioxidant Activity of Tunisian Red Beet ( *Beta vulgaris* L . *conditiva* ) Roots and Stems Extracts EXTRACTS. **International Journal of Food Properties**, v. 17, n. 9, p. 1934–1945, 2014.
- BOROSKI, M ; VISENTAINER, J.V. ; COTTICA, SOLANGE M. ; MORAIS, D. R. . Antioxidantes - Princípios e Métodos Analíticos. 1a. ed. Curitiba: Appris, 2015.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel – Wissenschaft Technologie**, v. 28, n. 1, p. 25–30, 1995.
- CAI, Y. Z.; CORKE, H. Production and Properties of Spray-dried. **Journal of Food Science**, v. 65, n. 3600, p. 1248–1252, 2000.
- ČANADANOVIĆ-BRUNET, JASNA M. SAVATOVIĆ, S. S. et al. Antioxidant and antimicrobial activities of beet root pomace extracts. **Czech Journal of Food Sciences**, v. 29, n. 6, p. 575–585, 2011.
- CAROCHO, M.; FERREIRA, I. C. F. R. A review on antioxidants , prooxidants and related controversy : Natural and synthetic compounds , screening and analysis methodologies and future perspectives. v. 51, p. 15–25, 2013.
- CHITARRA, M. I. F. Processamento mínimo de Frutos e Hortalças. Viçosa-MG: CPT, 2007.

- CISSE, M. et al. Aqueous extraction of anthocyanins from *Hibiscus sabdariffa*: Experimental kinetics and modeling. **Journal of Food Engineering**, v. 109, n. 1, p. 16–21, 2011.
- CLIFFORD, T. et al. The potential benefits of red beetroot supplementation in health and disease. **Nutrients**, v. 7, n. 4, p. 2801–2822, 2015.
- CONSTANT, P. B. L.; STRINGHETA, P. C.; SANDI, D. Corantes Alimentícios. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 20, n. 2, p. 203–220, 2002.
- COSTA, M. M. **Triagem fitoquímica e avaliação da atividade antioxidante da espécie *Hyptis pectinata***. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, 2016.
- CUCHINSKI, A. S.; CAETANO, J.; DRAGUNSKI, D. C. Extração do Corante da Beterraba (*BETA VULGARIS*) para Utilização Como Indicador Ácido-Base. **Eclética química**, v. 35, p. 17–43, 2010.
- DELGADO-VARGAS, F.; JIMÉNEZ, A. R.; PAREDES-LÓPEZ, O. Natural Pigments : Carotenoids , Anthocyanins , and Betalains — Characteristics , Biosynthesis , Processing , and Stability. v. 40, n. 3, p. 173–289, 2000.
- DRUNKLER, D. A.; FETT, R.; BORDIGNON-LUIZ, M. T. Avaliação da estabilidade de betalainas em extrato de beterraba (*Beta vulgaris L.* ) com  $\alpha$ -,  $\beta$ - e  $\gamma$ - ciclodextrinas. **B.CEPPA**, v. 24, p. 259–256, 2006.
- ERSUS, S.; YURDAGEL, U. Microencapsulation of anthocyanin pigments of black carrot (*Daucus carota L.*) by spray drier. **Journal of Food Engineering**, v. 80, n. 3, p. 805–812, 2007.
- ESCRIBANO, J. et al. Characterization of betalains , saponins and antioxidant power in differently colored quinoa ( *Chenopodium quinoa* ) varieties. **Food Chemistry**, v. 234, p. 285–294, 2017.
- FALCÃO, A. P. et al. Índice De Polifenóis, Antocianinas Totais E Atividade Antioxidante De Um Sistema Modelo De Geléia De Uvas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 3, p. 637–642, 2007.
- FERREIRA, L. P. C. Microencapsulação de Extrato de Beterraba pelo Processo de Gelificação Iônica. p. 1–60, 2018.
- HERBACH, K. M.; STINTZING, F. C.; CARLE, R. Betalain stability and degradation - Structural and chromatic aspects. **Journal of Food Science**, v. 71, n. 4, p. 41–50, 2006.
- HUANG, A. S.; ELBE, J. H. V. Effect of pH on the Degradation and Regeneration of Betanine. **Journal of Food Science**, v. 52, n. 6, p. 1689–1693, 1987
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. Coordenadores Odair Zenebron, Neus Sadocco Pascuet e Paulo Tiglea. 4. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020 p. Primeira edição digital
- JABEUR, I. et al. *Hibiscus sabdariffa L.* as a source of nutrients, bioactive compounds and

colouring agents. **Food Research International**, v. 100, n. August, p. 717–723, 2017.

JANISZEWSKA, E. Microencapsulated Beetroot Juice as a Potential Source of Betalain. **Powder Technology**, v. 264, p. 190–196, 2014.

KAZIMIERCZAK, R. et al. Beetroot (*Beta vulgaris* L.) and naturally fermented beetroot juices from organic and conventional production: Metabolomics, antioxidant levels and anticancer activity. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 94, n. 13, p. 2618–2629, 2014.

MAIA, S. E. S. Obtenção de pó misto de Umbu e Acerola por atomização e sua estabilidade. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Recife, 2017.

MATTÉ, G. M.; DA ROSA, S. A Tecnologia da Microencapsulação Através das Microesferas de Quitosana. **Revista Iberoamericana de Polímeros**, v. 14, n. 145, p. 206–218, 2013.

OLIVEIRA, I. R. N. DE. Antocianinas extraídas de capim-gordura (*Melinis minutiflora*): atividade antioxidante, microencapsulamento por atomização e estabilidade. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos alimentos). Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa, 2011.

PATHARE, P. B.; OPARA, U. L.; AL-SAID, F. A. J. Colour Measurement and Analysis in Fresh and Processed Foods: A Review. **Food and Bioprocess Technology**, v. 6, n. 1, p. 36–60, 2013.

PITALUA, E. et al. Antioxidative activity of microcapsules with beetroot juice using gum Arabic as wall material. **Food and Bioproducts Processing**, v. 88, n. 2–3, p. 253–258, 2010.

POORNIMA, K.; SINTHIYA, R. Encapsulation of beetroot extract using spray. **International Journal for Research in Applied Science & Engineering Technology (IJRASET)**. v. 5, n. 4, p. 346–352, 2017.

RAMOS, J. A. et al. Modificação da composição físico-química de beterrabas submetidas a diferentes tipos de corte e métodos de cocção. **Energia na Agricultura**, v. 29, n. 1, p. 108–120, 2014.

SANCHEZ-GONZALEZ, N. et al. Extraction, stability, and separation of betalains from *Opuntia joconostle* cv. using response surface methodology. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, n. 49, p. 11995–12004, 2013.

SÁNCHEZ-VIOQUE, R. et al. In vitro antioxidant and metal chelating properties of corm, tepal and leaf from saffron (*Crocus sativus* L.). **Industrial Crops and Products**, v. 39, n. 1, p. 149–153, 2012.

SANT'ANNA, V. et al. Tracking bioactive compounds with colour changes in foods - A review. **Dyes and Pigments**, v. 98, n. 3, p. 601–608, 2013.

SARDELLA, S. **Produção, caracterização e aplicação de extrato de beterraba microencapsulado em matrizes de maltodextrina e amido modificado**. Tese (Doutorado

em Engenharia de Alimentos) - Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, São José do Rio Preto, 2016

SHIOZER, A. L.; BARATA, L. E. S. Estabilidade de Corantes e Pigmentos de Origem Vegetal. **Revista Fitos**, v. 3, p. 6–24, 2007.

SILVA, P. I. et al. Parameter optimization for spray-drying microencapsulation of jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) peel extracts using simultaneous analysis of responses. **Journal of Food Engineering**, v. 117, n. 4, p. 538–544, 2013.

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

STINTZING, F. C. et al. Color, betalain pattern, and antioxidant properties of cactus pear (*Opuntia* spp.) clones. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 2, p. 442–451, 2005.

STINTZING, F. C.; CARLE, R. Functional properties of anthocyanins and betalains in plants, food, and in human nutrition. **Trends in Food Science and Technology**, v. 15, n. 1, p. 19–38, 2004.

SU, Y. L. et al. Microencapsulation of *Radix salvia miltiorrhiza* nanoparticles by spraydrying. **Powder Technology**, v. 184, n. 1, p. 114–121, 2008.

SWAIN, T.; HILLS, W.E. The phenolic constituents of *Punus domestica*. The quantitative analysis of phenolic constituents. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v.19, p. 63-68, 1959.

TIVERON, A. P. Atividade antioxidante e composição fenólica de legumes e verduras consumidos no Brasil Piracicaba. p. 103, 2010.

TONON, R. V. Secagem por atomização do suco de açaí: Influência das variáveis de processo, qualidade e estabilidade do produto. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2009.

TSENG, Y.; YANG, J.; CHANG, H. Antioxidant Properties of Methanolic Extracts Adlay. **Food Chemistry**, v.97, p. 375-381, 2006.

TUPUNA, D. S. et al. Encapsulation efficiency and thermal stability of norbixin microencapsulated by spray-drying using different combinations of wall materials. **Industrial Crops and Products**, v. 111, n. October 2017, p. 846–855, 2018.

VIEIRA, L.M.; SOUSA, M.S.B.; MANCINI-FILHO, J.;LIMA, A. Fenólicos totais e capacidade antioxidante *in vitro* de polpas de frutos tropicais. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.33, n.3, p. 888-897, 2011.

VILA, M. M. D. C.; CHAUD, M. V.; BALCÃO, V. M. Microencapsulation of Natural Anti-Oxidant Pigments. **Microencapsulation and Microspheres for Food Applications**, p. 369–389, 2015.

VOLP, A. C. P.; RENHE, I. R. T.; STRINGUETA, P. C. Pigmentos Naturais Bioativos. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 20, p. 157–166, 2009.

WOISKY, R. G.; SALATINO, A.. Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. **Journal of Apicultural Research**, v. 37, n. 2, p. 99-105 1998.

WOOTTON-BEARD, P. C.; MORAN, A.; RYAN, L. Stability of the total antioxidant capacity and total polyphenol content of 23 commercially available vegetable juices before and after in vitro digestion measured by FRAP, DPPH, ABTS and Folin-Ciocalteu methods. **Food Research International**, v. 44, n. 1, p. 217–224, 2011.

WU, X. et al. Lipophilic and Hydrophilic Antioxidant Capacities of Common Foods in the United States. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 12, p. 4026–4037, 2004.

WU, Y. et al. Stability and encapsulation efficiency of sulforaphane microencapsulated by spray drying. **Carbohydrate Polymers**, v. 102, n. 1, p. 497–503, 2014.

XIAO, J. et al. A Review of Microencapsulation Methods for Food Antioxidants: Principles, Advantages, Drawbacks and Applications. **Food Chemistry**, v. 272, n. February 2018, p. 494–506, 2018.

ZARDO, I. Extração e microencapsulação de compostos antociânicos do bagaço de mirtilo (*Vaccinium corymbosum L.*). Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Programa de Pós Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, 2014.

ZHANG, T. et al. Purification and characterisation of a new antioxidant peptide from chickpea (*Cicer arietium L.*) protein hydrolysates. **Food Chemistry**, v. 128, n. 1, p. 28–33, 2011.

## APÊNDICE

### PREPARO DA SOLUÇÃO DE MCLLVAINÉ

A solução tampão de Mcllavaine (Fosfato dissódico – ácido cítrico) será preparada a partir do que foi descrito por Morita e Assumpção (2003). Os materiais necessários serão listados a seguir: fosfato dissódico ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ); ácido cítrico ( $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$ ); água destilada.

Para o experimento serão produzidas duas soluções:

1. Solução de fosfato dissódico;
2. Solução de ácido cítrico;

MORITA, T.; ASSUMPÇÃO, R. M. V. **Manual de Soluções, reagentes e solventes**. Blucher: 12° Reimp. 2003, 629p