



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

CARLOS RUAN VIEIRA DE SOUSA

EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR ULTRASSOM E ENCAPSULAMENTO DE
CORANTE DA CASCA DE BETERRABA COM POTENCIAL PARA APLICAÇÃO
EM IOGURTE

FORTALEZA
2019

CARLOS RUAN VIEIRA DE SOUSA

EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR ULTRASSOM E ENCAPSULAMENTO DE CORANTE
DA CASCA DE BETERRABA COM POTENCIAL PARA APLICAÇÃO EM IOGURTE

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

Orientador: Prof. Dr. Paulo Henrique Machado de Sousa

Co-orientadora: Dra. Selene Daiha Benevides

FORTALEZA

2019

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

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

S696e Sousa, Carlos Ruan Vieira de.
Extração assistida por ultrassom e encapsulamento de corante da casca de beterraba com potencial para aplicação em iogurte. / Carlos Ruan Vieira de Sousa. – 2019.
89 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Fortaleza, 2019.
Orientação: Prof. Dr. Paulo Henrique Machado de Sousa.
Coorientação: Prof. Dr. Selene Daiha Benevides.

1. Pigmento. 2. Antioxidantes. 3. Betalainas. 4. Engenharia de Alimentos. 5. Polifenóis. I. Título.
CDD 664

CARLOS RUAN VIEIRA DE SOUSA

EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR ULTRASSOM E ENCAPSULAMENTO DE CORANTE
DA CASCA DE BETERRABA COM POTENCIAL PARA APLICAÇÃO EM IOGURTE

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

Aprovada em: ___ / ___ / ____.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Paulo Henrique Machado de Sousa (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dra. Selene Daiha Benevides (Co-orientadora)
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA)

Prof. Dra. Neide Kazue Sakugawa Shinohara
Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE)

Dra Roselayne Ferro Furtado
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA)

Dr Sandro Thomaz Gouveia
Universidade Federal do Ceará (UFC)

A Deus.

Aos meus pais, parentes e amigos.

AGRADECIMENTOS

À CAPES, cujo presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

A Deus, por estar sempre comigo para prosseguir nesta caminhada. Por ser minha rocha e fortaleza, sempre renovando minhas forças.

A minha filha Ana Letícia, um dos maiores presentes que Deus me deu, os meus pais, Carlos Augusto e Clécia Vieira, minha esposa Jaqueline, avós, avôs e tio Cléber, como representantes de uma imensa família, pela minha educação para a vida, por sempre me apoiarem e me ensinarem o melhor da vida, meu porto seguro.

À Universidade Federal do Ceará, em especial ao programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, pela contribuição em minha capacitação e formação.

Ao meu orientador, Paulo Henrique, por todos os ensinamentos enriquecedores e orientações.

A minha Co-orientadora Selene Daiha Benevides, por estar comigo ao longo de uma caminhada que vem desde a época de bolsista.

A Embrapa Agroindústria Tropical que me deu todo o aparato necessário para realização da minha pesquisa.

Aos meus amigos mais chegados, Glaber um dos maiores presentes da universidade, meus primos-irmão, Wesley, Wellington, Felipe, John, agradeço demais pela força, amizade e por sempre acreditarem em mim.

Aos amigos cultivados no Laboratório de Embalagens de Alimentos da Embrapa, pessoas das quais aprendi a gostar, as orientadoras do laboratório, vocês realmente são como uma família e esse ambiente faz toda a diferença, agradeço demais.

Aos amigos da universidade, a Delane, parceira de trabalho, kelvin mesmo longe, mas uma pessoa que sempre posso contar, agradeço por tudo.

E a todos que direta ou indiretamente contribuíram de alguma forma para o meu crescimento, só tenho a agradecer, que Deus possa abençoar a todos vocês...

"Porque Deus amou ao mundo de tal maneira, que deu o seu Filho unigênito, para que todo o que nele crê não pereça, mas tenha a vida eterna" (BÍBLIA SAGRADA, 2015, João 3:16).

RESUMO

As betalaínas são pigmentos naturais com alto poder antioxidante, sendo associado à manutenção da saúde. Entretanto, são sensíveis a fatores como alta temperatura, presença de luz e oxigênio, bem como pH fora da faixa de 4 a 7. Microencapsulação associada a métodos de extração e secagem específicos tem sido uma alternativa para melhorar a estabilidade de pigmentos tornando possível sua incorporação em diferentes matrizes alimentícias. Dessa forma, objetivou-se extrair e caracterizar um corante natural obtido do co-produto de beterraba foi encapsulado para aplicação em matrizes alimentícias. O extrato foi obtido por sonicação em ultrassom das cascas por meio de um Delineamento Experimental (DCCR), com base na Metodologia de Superfície de Resposta (MSR), utilizando amplitude, pH e tempo de extração como variáveis independentes. Quatro extratos foram escolhidos e encapsulados por meio de gelificação iônica, com alginato como material de parede. As cápsulas foram liofilizadas, e analisadas por microscopia óptica, teor de umidade e atividade de água (a_w), taxa de retenção dos corantes, quantidade de polifenóis, atividade antioxidante, cor, estabilidade do corante e análise sensorial por meio de teste de aceitabilidade, análise de componentes principais (ACP) pelo método Check All That Apply (CATA) e teste de idealidade. O pH foi a variável independente mais significativa para extração de compostos bioativos nos extratos, sendo que o tratamento com maiores valores das variáveis independentes (T8), obteve maior quantidade de polifenóis ($689,9 \pm 3,1 \text{ mg}/100 \text{ g}$). Já o tratamento T3 de pH 4, associado a um tempo mais curto de extração (603,6 segundos) coloração mais forte e mais diferente das demais. Após secagem, as partículas apresentaram tamanho entre $697,56 \pm 154,18$ e $844,83 \pm 180,9 \mu\text{m}$ e conteúdo abaixo de $0,57 \pm 0,02$ para a_w . T8 e T10 com maiores valores de pH e tempo de extração apresentaram altas taxas de retenção para quantidade de betalaínas e atividade antioxidante. Em relação a estabilidade, T3 apresentou menor taxa de degradação após 15 dias na ausência de luz. Na análise sensorial, a amostra contendo T3 foi a que mais se aproximou das características ideais para um iogurte com corante natural. Dessa forma pode-se concluir que o processo de extração, associado ao método microencapsulamento do corante contribuiu para a obtenção e preservação de altas taxas de compostos bioativos e atividade antioxidante.

Palavras-chave: Pigmento. Antioxidantes. Cascas. Polifenóis. Betalainas. Gelificação.

ABSTRACT

Betalains are natural pigments with high antioxidant power and are associated with health maintenance. However, they are sensitive to factors such as high temperature, light and oxygen presence as well as pH outside the range of 4 to 7. Microencapsulation associated with specific extraction and drying methods has been an alternative to improve pigment stability making it possible to incorporate pigments in different food matrices. Thus, the objective was to extract and characterize a natural dye obtained from the beet co-product was encapsulated for application in food matrices. The extract was obtained by sonication of the bark by means of an Experimental Design (DCCR), based on the Response Surface Methodology (MSR), using amplitude, pH and extraction time as independent variables. Four extracts were chosen and encapsulated by ionic gelation, with alginate as the wall material. The capsules were lyophilized and analyzed by light microscopy, moisture content and water activity (a_w), dye retention rate, amount of polyphenols, antioxidant activity, color, dye stability and sensory analysis by acceptability testing. principal component analysis (PCA) by the method Check All That Apply (CATA) and ideality test. The pH was the most significant independent variable for extraction of bioactive compounds in the extracts, and the treatment with higher values of independent variables (T8), obtained higher amount of polyphenols ($689.9 \pm 3.1 \text{ mg} / 100\text{g}$). Already the T3 treatment of pH 4, associated with a shorter extraction time (603.6 seconds) stronger color and more different from the others. After drying, the particles had a size between 697.56 ± 154.18 and $844.83 \pm 180.9 \mu\text{m}$ and content below 0.57 ± 0.02 for a_w . T8 and T10 with higher pH values and extraction time showed high retention rates for betalain amount and antioxidant activity. Regarding stability, T3 presented lower degradation rate after 15 days in the absence of light. In the sensory analysis, the sample containing T3 was the closest to the ideal characteristics for a natural-colored yogurt. Thus, it can be concluded that the extraction process, associated with the dye microencapsulation method, contributed to obtain and preserve high rates of bioactive compounds and antioxidant activity.

Keywords: Pigment. Antioxidants. Shells. Polyphenols. Betalains. Ionic Gelation.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	– Beterraba e suas diferentes partes, (a) beterrabas inteiras, (b) talos da beterraba, (c) bulbos e (d) folhas.....	19
Figura 2	– Composição de bioativos presentes nas beterrabas.....	19
Figura 3	– Estrutura geral das betacianinas (R e R1), das betaxantinas (R2 e R3) e estrutura do ácido betalâmico, o precursor comum a todas as betalaínas.....	21
Figura 4	– Estrutura de micropartículas.....	29
Figura 5	– Mecanismo de formação de micropartículas por gelificação iônica.....	31
Figura 6	– Estrutura (A) e conformação da cadeia (B) do alginato de sódio.....	33
Figura 7	– Modelo “caixa de ovo” para formação de gel de alginato com íons de cálcio	34
Figura 8	– Parâmetros de cor, segundo método CIELAB.....	41
Gráfico 1	– Diagrama de Pareto e gráfico de superfície de resposta de tempo de extração x pH para quantificação de betalaína totais.....	45
Gráfico 2	– Diagrama de Pareto e gráfico de superfície de resposta de amplitude do ultrassom x pH para quantificação de polifenóis totais.....	47
Gráfico 3	– Diagrama de Pareto e gráfico de superfície de resposta de pH x Amplitude do ultrassom para o resultado de atividade antioxidante.....	49
Gráfico 4	– Diagrama de Pareto e gráfico de superfície de resposta do tempo de extração x pH para o resultado da coordenada a* de cor.....	51
Figura 9	– Tratamento 3 do extrato aquoso de betalaínas.....	53
Figura 10	– Imagem microscópica dos corantes encapsulados.....	56
Figura 11	– Micropartículas de alginato antes (A) e após o processo de secagem (B).....	57
Gráfico 5	– Quantidade de betaninas e vulgaxantinas das micropartículas.....	61
Figura 12	– Iogurte adicionado de corantes microencapsulados e do pó das cascas de beterraba.....	70
Gráfico 6	– Respostas referentes a escala hedônica do teste de aceitação para os atributos avaliação global, aparência, cor, aroma e cor rosa do iogurte.....	72
Gráfico 7	– Percentual da frequência de registros das características sensoriais ($p < 0,5$).	74
Gráfico 8	– Análise de componentes principais (ACP) dos atributos.....	75
Gráfico 9	– Impacto médio dos principais perfis sensoriais das amostras de iogurte.....	76
Gráfico 10	– Histograma de escala do ideal.....	77

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	– Composição nutricional da beterraba (<i>Beta vulgaris</i> L.) <i>in natura</i>	18
Tabela 2	– Variáveis independentes com suas respectivas variações e codificação...	36
Tabela 3	– Resultados do Delineamento de Composto Central Rotacional (DCCR) para as variáveis dependentes e independentes.....	44
Tabela 4	– Análise de cor dos tratamentos com suas variáveis independentes.....	52
Tabela 5	– Correlação de Pearson entre variáveis dependentes.....	54
Tabela 6	– Tamanho e forma das microesferas.....	55
Tabela 7	– Valores de Umidade Relativa (UR) e Atividade de Água (Aw).....	58
Tabela 8	– Quantidade de betalaínas totais do extrato, das micropartículas e taxa de retenção.....	60
Tabela 9	– Quantidade de polifenóis totais do extrato, das micropartículas e taxa de retenção.....	63
Tabela 10	– Atividade antioxidante do extrato, das micropartículas e taxa de retenção	65
Tabela 11	– Análise colorimétrica das micropartículas.....	67
Tabela 12	– Taxa de degradação das betalaínas em ausência de luz (AL) e em presença de luz (PL) ao longo de 15 dias.....	69

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	OBJETIVO GERAL	15
2.1	Objetivos específicos.....	15
3	REVISÃO LITERÁRIA	16
3.1	Aproveitamento de resíduos agroindustriais.....	16
3.2	Beterraba (<i>Beta vulgaris</i> L.).....	17
3.2.1	<i>Betalainas</i>.....	20
3.2.2	<i>Betalainas como corantes naturais</i>.....	22
3.2.3	<i>Propriedades das betalainas benéficas a saúde</i>.....	23
3.2.4	<i>Degradação das betalainas</i>.....	25
3.3	Métodos de extração de bioativos.....	26
3.3.1	<i>Extração assistida por ultrassom (EAU)</i>.....	27
3.4	Microencapsulamento.....	28
3.4.1	<i>Geleificação iônica</i>.....	30
3.4.2	<i>Alginato de sódio</i>.....	32
3.4.3	<i>Secagem por liofilização</i>.....	34
4	MATERIAL E MÉTODOS	36
4.1	Matéria prima.....	36
4.2	Delineamento experimental.....	36
4.3	Extração assistida por ultrassom(EAU).....	37
4.4	Encapsulamento.....	37
4.5	Análise de imagem.....	38
4.6	Umidade Relativa (UR).....	38
4.7	Atividade de água (Aw).....	38
4.8	Quantificação de betalainas totais.....	39
4.9	Quantificação de polifenóis totais.....	39
4.10	Atividade antioxidante.....	40
4.11	Colorimetria.....	40
4.12	Taxa de retenção.....	41
4.13	Estabilidade do corante encapsulado.....	41
4.14	Taxa de degradação.....	42

4.15	Análise sensorial.....	42
4.16	Estatística.....	43
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
5.1	Etapa 1 –Extração assistida por ultrassom através de DCCR.....	44
5.1.1	<i>Quantificação de betalaínas totais.....</i>	45
5.1.2	<i>Quantificação de polifenóis totais.....</i>	47
5.1.3	<i>Atividade antioxidante.....</i>	49
5.1.4	<i>Colorimetria.....</i>	51
5.1.5	<i>Coefficiente de Person (r).....</i>	54
5.2	Etapa 2 – Encapsulamento de corante natural por gelificação iônica.....	55
5.2.1	<i>Análise de imagem.....</i>	55
5.2.2	<i>Umidade Relativa (UR).....</i>	57
5.2.3	<i>Atividade de água (Aw).....</i>	59
5.2.4	<i>Quantificação de betalaínas totais.....</i>	59
5.2.4.1	Taxa de retenção de betalaínas (TRB%).....	62
5.2.5	<i>Quantificação dos polifenóis totais.....</i>	63
5.2.5.1	Taxa de retenção polifenóis (TRP%).....	64
5.2.6	<i>Atividade antioxidante.....</i>	64
5.2.6.1	Taxa de retenção de atividade antioxidante (TRA%).....	66
5.2.7	<i>Colorimetria.....</i>	66
5.2.8	<i>Estabilidade das micropartículas.....</i>	68
5.3	Etapa 3 – Incorporação do corante encapsulado em matriz alimentícia.....	70
5.3.1	<i>Análise Sensorial.....</i>	71
5.3.1.1	Perfil dos provadores.....	71
5.3.1.2	Teste de aceitabilidade.....	71
5.3.1.3	Check-all-that-apply (CATA).....	73
5.3.1.4	Teste de Idealidade.....	77
6	CONCLUSÃO	78
	REFERÊNCIAS.....	79

1 INTRODUÇÃO

O desperdício de alimentos é um dos problemas que pesquisadores do mundo inteiro buscam solucionar nos dias de hoje, pois contempla fatores como preparo em quantidades excessivas, armazenamento inadequado, não aproveitamento de partes não convencionais de frutos e hortaliças, gerando resíduos. Em contrapartida, a utilização desses resíduos permite a redução do lixo descartado no meio ambiente, preservando os recursos naturais, contribuindo na redução de custos para agroindústria e agregando valor a um subproduto outrora descartado.

Dentre os resíduos de alimentos, encontram-se os resíduos vegetais, os quais podem ser compostos de talos, cascas, sementes, folhas, bagaços ou qualquer outro derivado do vegetal que difere da parte principal utilizada como alimento. Contudo, estudos mostram que partes consideradas menos nobres são descartados pela indústria podem ser utilizadas como fonte de nutrientes e compostos funcionais (SANTOS et al., 2017).

Nos últimos anos houve um aumento no interesse pela utilização de co-produtos de frutos e legumes devido seus elevados teores de compostos fenólicos, sendo considerada uma potente fonte de antioxidantes naturais, e também reconhecida por sua atividade biológica, relacionada diretamente com benefícios à saúde (GONZÁLEZ-CENTENO et al., 2015).

Diante desse cenário de sustentabilidade alimentar as cascas de beterraba são um exemplo de resíduo ainda muito pouco explorado pela indústria alimentícia, sendo utilizadas como complemento da alimentação animal ou como fertilizante orgânico. Quando as cascas de beterraba são utilizadas como fonte de pigmentos naturais, elas deixam de ser um resíduo da agroindústria e passam a ter um valor agregado, tornando-se um co-produto.

Os pigmentos presentes nas cascas da beterraba são conhecidos como betalaínas, as quais são responsáveis pela sua intensa coloração vermelho-violeta. As betalaínas das cascas da beterrada (*Beta vulgaris* L.) apresentam grande potencial não somente em relação ao seu alto poder corante, mas também devido à suas propriedades bioativas, como ação antioxidante, propriedades anticancerígenas, hepatoprotetoras, anti-inflamatórias, dentre outras. Em contrapartida, sabe-se que grande parte dos corantes artificiais podem prejudicar a saúde. Dessa forma, utilizar as betalaínas como corantes naturais em matrizes alimentícias pode ser uma alternativa benéfica a saúde humana como forma de combate aos radicais livres, no combate a formação de tumores, propriedades anti-inflamatórias e hepatoprotetoras.

Um fator que dificulta a utilização destes pigmentos é a sua grande tendência à degradação a partir do momento em que são extraídos, em decorrência do rompimento do tecido vegetal. Fatores como alta temperatura, presença de luz, presença de oxigênio, umidade e pH alteram a estabilidade das betalaínas. Desta forma, a escolha do método de extração deve levar em consideração tais fatores, além do uso de mecanismos que venham a preservar a estabilidade do pigmento, visando reduzir ao máximo sua degradação.

Rocha, Fávaro-Trindade e Grosso (2012) relataram que o encapsulamento é uma alternativa viável para aumentar a estabilidade das betalaínas após sua extração, mantendo suas propriedades bioativas. Tal processo consiste, basicamente, em um empacotamento de partículas por uma membrana, que por sua vez as isola e as protege do meio externo, e que vem sendo empregada com êxito em diversos setores das indústrias, não só alimentícia como também farmacêutica e de cosmético.

As bebidas lácteas muitas vezes utilizam corantes e aromatizantes artificiais. Alguns iogurtes por exemplo, usam corantes de coloração avermelhada semelhante a coloração das betalaínas obtidas das cascas de beterraba, assim seu uso como corante natural pode ser viável, uma vez que o mercado de pigmentos naturais está em expansão e há necessidade de se encontrar fontes alternativas para a substituição dos corantes artificiais em alimentos.

2 OBJETIVO GERAL

Obtenção e caracterização de um corante natural extraído das cascas da beterraba (*Beta. vulgaris* L.), encapsulado com alginato como agente encapsulante, visando aplicação tecnológica em iogurte natural.

2.1 Objetivos específicos

1. Avaliar as melhores condições de extração assistida por ultrassom (EAU) de um corante natural das cascas de beterraba, com base no delineamento do composto central rotacional (DCCR), utilizando a amplitude do ultrassom, tempo de extração e pH dos extratos como variáveis independentes e quantidade de betalaínas totais, polifenóis totais, atividade antioxidante e cor como variáveis dependentes; através da metodologia de superfície de resposta (MSR).
2. Obter microesferas por meio do encapsulamento dos extratos com alginato de cálcio como agente encapsulante e gluconolactato como agente reticulante, por meio de gelificação iônica, utilizando liofilização como processo de secagem;
3. Observar a forma e o tamanho das microesferas após o processo de secagem através de análise de imagem em microscópio óptico;
4. Caracterizar as cápsulas quanto sua atividade de água, umidade e solubilidade;
5. Avaliar se houve alteração na quantidade de betalaínas, polifenóis, atividade antioxidante e cor após o encapsulamento e secagem do corante.
6. Avaliar a eficiência do encapsulamento, através da taxa de retenção da quantidade de betalaínas e polifenóis totais, atividade antioxidante e cor das microesferas após o processo de encapsulamento.
7. Avaliar a estabilidade dos extratos encapsulados na presença e ausência de luz através do conteúdo de betalaínas total durante 15 dias;
8. Avaliar a eficiência do corante natural adicionado em iogurte, por meio de análise sensorial visual.

3 REVISÃO LITERÁRIA

3.1. Aproveitamento de Resíduos Agroindustriais

De acordo com a pesquisa realizada pela FAO, aproximadamente 1,3 bilhão de toneladas de alimentos são anualmente desperdiçados ou perdidos em todo o mundo, o que representa cerca de um terço de toda a produção para consumo humano. As maiores perdas vêm de frutas e legumes, responsáveis por até 50% da produção, ocorrendo principalmente durante as etapas de processamento e pós-colheita (FAO, 2016).

Esse desperdício, além de estar relacionado com o preparo em quantidades excessivas e o armazenamento inadequado, também contempla o que ocorre quando partes consideradas menos nobres dos alimentos são tratadas como resíduos, sem que a sua qualidade nutricional e/ou funcional seja de alguma forma aproveitada, ocasionando mal-uso de recursos, problemas ambientais e econômicos, tornando-se um desafio moral para a sociedade (MIRABELLA; CASTELLANI; SALA, 2014).

Tradicionalmente, as camadas mais externas dos frutos e as extremidades dos legumes são removidas durante o processamento. Essas partes compreendem essencialmente caules, talos, cascas, folhas, bagaço ou qualquer outra porção do vegetal, como as sementes, que difere da parte principal utilizada usualmente como alimento. Contudo, estudos mostram que partes consideradas menos nobres podem ser subprodutos com potencial para utilização como fonte de nutrientes e moléculas bioativas (ANDRADE; FERREIRA; GONÇALVES, 2014, FERREIRA et al., 2015, SANTOS et al., 2017).

Na literatura, encontram-se diversos estudos que avaliaram a utilização de subprodutos da agroindústria como fonte de compostos bioativos ou substitutos de matérias-primas mais nobres. Carmo et al. (2018), em seu estudo de extração assistida por ultrassom de betalinas de casca de quinoa (*Chenopodium quinoa* W.), concluíram que as cascas de quinoa são uma boa fonte de betalainas e a presença de saponinas nos extratos pode ajudar a produzir um ingrediente bifuncional único para as indústrias alimentícia e farmacêutica. Já Bressiani et al. (2017) avaliaram sensorialmente junto a 111 provadores não treinados (clientes e funcionários) um bolo produzido com o aproveitamento das cascas de banana em estado de maturação avançado, com coloração amarelada, obtendo índice de aceitabilidade próximo a 86% dentre seus provadores, que indica ótima nível de aceitação.

Outro uso potencial desse resíduo de vegetais pode ser no ramo de embalagens para alimentos. Brito et al. (2019) utilizaram farinhas de resíduos de frutas e legumes com diferentes

granulometrias como matéria-prima para preparação de filmes biodegradáveis enriquecidos com pectina e concluíram que diferentes frações de resíduos podem ter diferentes aplicações, dependendo do tamanho e composição das partículas como fibras dietéticas ou como produção de filmes biodegradáveis.

Nesse sentido, a beterraba (*Beta vulgaris* L.) é uma das principais hortaliças cultivadas no Brasil, com diversos biótipos, cujas raízes e folhas são utilizadas na alimentação humana. Rica em compostos bioativos, a beterraba muitas vezes não é aproveitada de forma integral, gerando resíduo. Segundo Santos et al. (2017), talos e as cascas de beterraba são um exemplo de resíduo ainda muito pouco explorado pela indústria alimentícia. Geralmente, são utilizados apenas como complemento da alimentação animal ou fertilizante orgânico. Quando os talos de beterraba são utilizados como fonte de pigmentos naturais, eles deixam de ser um resíduo da agroindústria e passam a ser um co-produto com valor agregado e com aplicação tecnológica.

3.2 Beterraba (*Beta vulgaris* L.)

A beterraba é uma dicotiledônea pertencente à família *Chenopodiaceae*, sendo originária das regiões de clima temperado da Europa e do Norte da África. Apresenta raiz tuberosa de formato globular que se desenvolve quase à superfície do solo, com sabor acentuadamente doce e coloração púrpura. Apresenta alta capacidade de cultivo e baixo custo de processamento (CLIFFORD et al., 2015, FERREIRA, 2010). Possui teor significativo de vitaminas, proteínas, lipídeos, carboidratos e minerais como K, Fe, Cu, Zn e Na conforme mostra a tabela 1.

Além do seu alto valor nutricional, a beterraba é também considerada um alimento funcional (CLIFFORD et al., 2015). Os alimentos funcionais quando consumidos como parte da dieta, além de fornecerem nutrientes básicos, apresentam benefícios para o funcionamento metabólico e fisiológico, proporcionando melhora à saúde física e mental, prevenindo o desenvolvimento de doenças crônicas degenerativas. A beterraba é proposta como um alimento promotor da saúde, que além de estimular o sistema imunológico, reduz risco de desenvolver doença cardiovascular (FERREIRA, 2010; CLIFFORD et al., 2015).

Tabela 1 Composição nutricional da beterraba (*Beta vulgaris* L.) *in natura*.

Componentes	Unidade	Teor (em 100g)	
		TACO, 2011	TIVELLI <i>et al.</i> , 2009
Calorias (Valor energético)	Kcal	49	43
Água	G	86	87,3
Proteína	G	1,9	1,6
Lípideos	G	0,1	0,1
Carboidratos	G	11,1	9,9
Fibra alimentar	G	3,4	0,8
Cinzas	G	0,9	1,1
Cálcio	Mg	18	16
Fósforo	Mg	19	33
Ferro	Mg	0,3	0,7
Sódio	Mg	10	60
Potássio	Mg	375	335
Magnésio	Mg	24	-
Manganês	Mg	1,23	-
Cobre	Mg	0,08	-
Zinco	Mg	0,5	-
Vitamina A (Retinol)	Mg	-	20
Vitamina B1 (Tiamina)	Mg	0,04	0,03
Vitamina B2 (Riboflavina)	Mg	-	0,05
Vitamina B3 (Niacina)	Mg	-	0,4
Vitamina B6 (Piridoxina)	Mg	0,04	-
Vitamina C	Mg	3,1	10

Fonte: Taco, (2011) e Tivelli et al. (2009)

As principais regiões produtoras de beterraba no Brasil estão localizadas nos estados de São Paulo, Minas Gerais, Paraná e Rio Grande do Sul. Das propriedades produtoras de beterraba existentes no país, 42% estão na Região Sudeste e 35% na Região Sul, sendo as demais regiões responsáveis por apenas 23% da produção nacional. No Nordeste, o cultivo dessa hortaliça é reduzido, pois as temperaturas mais elevadas tendem a reduzir a pigmentação e consequentemente a qualidade do produto (MARQUES et al., 2010).

A beterraba é uma das principais hortaliças cultivadas no Brasil, conhecida como beterraba de mesa, ao longo da década de 2000 foi observado um crescimento na demanda brasileira para o consumo de beterrabas *in natura*, bem como do número de beterrabas utilizadas na fabricação de conservas industriais, alimentos infantis e corantes, aplicados em sopas desidratadas, iogurtes e molhos ketchups. (TIVELLI et al., 2011).

São três os tipos de beterraba existentes: beterraba hortícola ou de mesa, beterraba açucareira e beterraba forrageira, sendo que, no Brasil, somente a beterraba hortícola é cultivada comercialmente (CORRÊA, 2014). A beterraba se divide em bulbo, talos e folhas, sendo as diferentes partes dessa hortaliça apresentadas na figura 1.

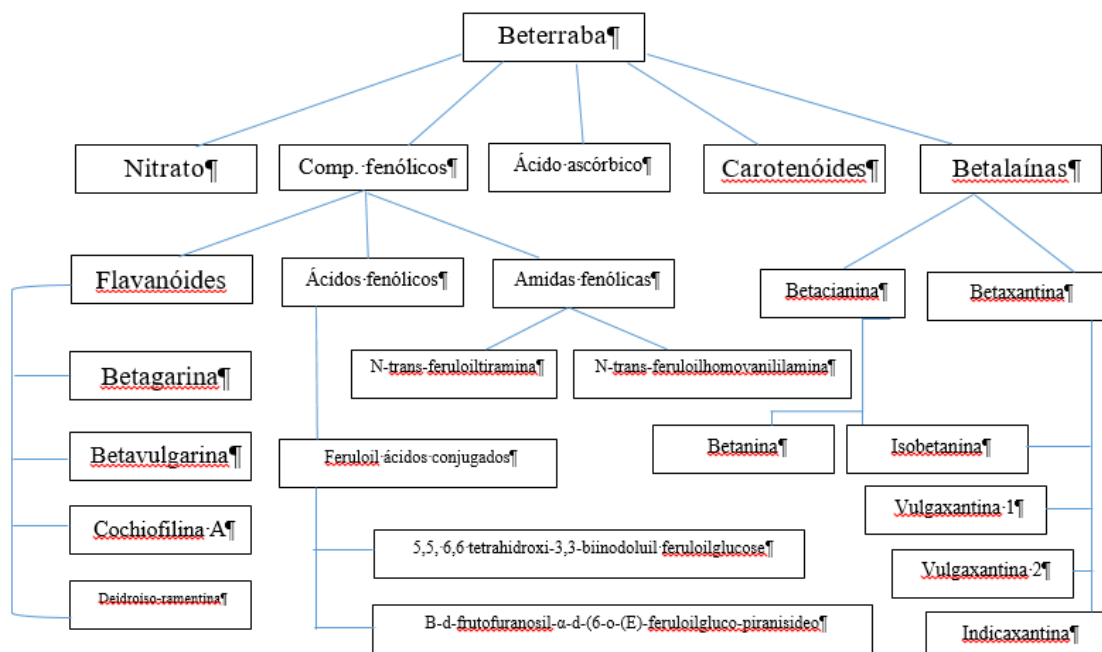
Figura 1 Beterraba e suas diferentes partes, (a) beterrabas inteiras, (b) talos da beterraba, (c) bulbos e (d) folhas.



Fonte: o autor

A beterraba é composta por altos níveis do pigmento betalaína (GULDIKEN et al., 2016), carotenoides (NINFALI; ANGELINO, 2013), polifenóis, flavonóides, saponinase e nitrato (LIDDER; WEBB, 2013). Alguns compostos bioativos foram encontrados em baixos níveis, como glicina, betaína e folato. Os compostos bioativos identificados por Clifford et al. (2015), são apresentados na figura 2.

Figura .2 Composição de bioativos presentes na beterraba



Fonte: Clifford et al. (2015).

Compostos fenólicos são uma grande classe de metabólitos pertencentes as plantas e significativos para a qualidade de alimentos. A beterraba tem alta quantidade de flavonóides e compostos fenólicos. Os compostos fenólicos altamente instáveis isolados da casca da beterraba 5,50,6,60-tetra-hidroxi-3,30-biindolilo; um dímero de ácido 5,6-dihydroxyindolecarboxylic e betalaínas composto de vulgaxanthin I, II vulgaxanthin, indicaxanthin, prebetanin, isobetanin, betanina e neobetanin (NEMZER et al., 2011). Vasconcellos et al. (2016), compararam o teor total de fenólicos em suco de beterraba crua, batatas fritas, beterraba em pó e cozida. A parte da raiz geralmente contém o menor conteúdo de compostos fenólicos. Foi relatado que suco de beterraba e beterraba cozida possuem maior teor de fenólicos totais do que beterraba frita e em pó devido à perda de compostos durante o processo de secagem.

No estudo desenvolvido por Koubaier et al. (2014) foi comparado a quantidade de betalaínas, a composição de fenólicos totais e a atividade antioxidante da polpa e dos talos da beterraba. O extrato obtido da polpa demonstrou um maior quantidade de betalaínas do que os talos, com teor máximo de 53 ± 4 mg de betanina equivalente por grama de extrato, 46 ± 3 mg vulgaxantina I equivalente por grama de extrato para as raízes, $11 \pm 0,5$ mg de betanina equivalente por grama de extrato, $10,4 \pm 0,8$ mg vulgaxantina I equivalente por grama de extrato para os talos. O suco da polpa apresentou maior atividade antioxidante, associada à maior quantidade de betalaínas presentes, e menor concentração de fenólicos totais que os talos.

Bassi (2014) destaca, entre os benefícios do consumo da beterraba, o fato dela ser um auxiliar na redução da pressão arterial, ótimo antioxidante natural, agindo contra o envelhecimento celular e reduzindo o risco de alguns tipos de câncer. É fonte de vitamina A e vitaminas do complexo B, importantes para o sistema imunológico, incluindo o ácido fólico, relacionado à boa formação fetal.

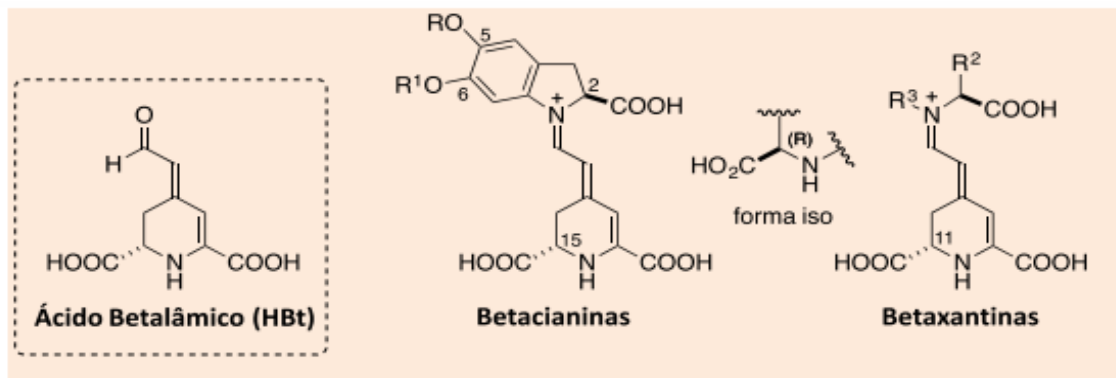
O consumo de beterraba vermelha vem aumentando no mercado de processamento. As propriedades funcionais da beterraba são devido à presença de polifenóis e betalaínas, compostos importantes derivados do metabolismo secundário das plantas (LOPEZ-NIEVES et al., 2018).

3.2.1 Betalaínas

As betalaínas são pigmentos naturais nitrogenados e hidrossolúveis, sintetizados a partir do aminoácido tirosina e são amplamente utilizados como corante na indústria

alimentícia. Esses pigmentos estão presentes nas plantas da ordem *Caryophyllales* (ESCRIBANO et al., 2017) e se dividem em dois grupos estruturais, betacianinas (de coloração vermelho-violeta) e betaxantinas (de coloração amarelo-alaranjada), sendo o ácido betalâmico um cromóforo comum para ambas as estruturas químicas, segundo Azeredo (2009) e Gonçalves et al. (2015), conforme a figura 3. Khan e Giridhar (2015) reportam que, até o ano de 2015, cerca de 75 estruturas de betalaínas (incluindo betacianinas e betaxantinas) foram identificadas em aproximadamente 17 famílias das 34 famílias conhecidas da ordem *Caryophyllales*, cujo representante é a família das beterrabas vermelhas.

Figura 3 Estrutura geral das betacianinas (R e R1), das betaxantinas (R2 e R3) e estrutura do ácido betalâmico, precursor comum a todas as betalaínas.



Fonte: Gonçalves et al. (2015).

Betacianinas e betaxantinas exibem absorção máxima em 532-550 nm e 457-485 nm, respectivamente. O sistema de ligação dupla conjugada da porção ácido betalâmico constitui o cromóforo responsável por estas absorções e, conseqüentemente, pela cor vívida (KHAN, 2016). As betacianinas podem ser classificadas por sua estrutura química em quatro tipos: betanina, amarantina, gonferina e bougainvilina. Até o momento são descritos aproximadamente 50 tipos de betacianinas e 20 tipos de betaxantinas. As beterrabas contêm ambos os corantes, cerca de 75-95% de betacianina (betanina) e aproximadamente 95% de betaxantina (vulgaxantina I) (CHHIKARA et al., 2019).

Apesar de apresentarem colorações semelhantes as plantas que possuem antocianinas, diferentemente destas, a coloração dos compostos ricos em betalaínas é menos afetada pelo pH do meio. A estabilidade da coloração em um meio com pH no intervalo entre 3 e 7 torna particularmente adequada a aplicação de betalaínas para uma ampla faixa de alimentos ácidos e neutros (RODRIGUEZ-AMAYA, 2019). Dessa forma, as betalaínas podem

ser uma alternativa para substituir as antocianinas como corante natural em uma vasta gama de produtos alimentícios. Segundo Gonçalves et al. (2012), o extrato de betalaínas retirado da beterraba vermelha é utilizado amplamente como corante natural em produtos lácteos, bebidas e doces.

3.2.2 Betalaínas como corantes naturais

A preocupação com a segurança alimentar e forte demanda por produtos mais naturais têm estimulado esforços para a substituição de alimentos contendo corantes artificiais por pigmentos naturais, reforçada nos últimos anos pelos potenciais benefícios para a saúde.

Na literatura há vários estudos evidenciando o uso de betalaínas de diferentes fontes como corante natural em diversos produtos de matriz alimentícia. Roriz et al. (2018) utilizou a perpétua (*Gomphrena globosa* L.) como nova fonte de betacianinas para incorporação em sorvetes e comparação com extratos de raízes de beterraba e betalaínas comerciais, Sigurdson e Tang (2017) estudaram o uso de betalaínas da beterraba (*Beta Vulgaris* L.) como corante natural com potencial aplicação em matrizes alimentícias. Wong e Siow (2015) abordaram os efeitos do calor, pH, antioxidante, agitação e de luz sobre a estabilidade de betacianina da polpa de fruto do dragão vermelho (*Hylocereus polyrhizus*) aplicados em sucos.

A betanina, tipo de betalaína extraída da beterraba, foi comercializada como um corante alimentar natural, aprovado pela União Européia e pela Food and Drug Administration (FDA) nos EUA. Seu uso é, no entanto, limitado devido seu alto teor de nitrato e seu sabor terroso causado por derivados de geosmina e pirazina (STINTZING; CARLE, 2004). Limitação essa, que pode ser diluída através da escolha de métodos apropriados de pré-tratamento e extração, como uso de equipamentos com emissão de ondas ultrassônicas, uso de temperaturas acima de 70°C, secagem por liofilização, spray-dried, que possibilitem a eliminação desses compostos (NGAMWONGLUMLERT; DEVAHASTIN; CHIEWCHAN, 2017). Avanços na tecnologia de processamento e estabilização (CELLI; BROOKS, 2017), disponibilidade de amplo espectro de cor, melhor qualidade de pigmentos desprovidos de sabor estranho, e a possibilidade de desenvolver formulações fortificadas com betalaina contendo certos outros componentes bioativos e nutricionais, foram estudadas e obtendo resultados positivos para utilização desse corante (KHAN; GIRIDHAR, 2015).

Já os corantes artificiais são uma classe de aditivos sem valor nutritivo, introduzidos nos alimentos e bebidas com o único objetivo de conferir cor, tornando-os mais atrativos. Por

esse motivo, do ponto de vista da saúde, os corantes artificiais em geral não são recomendados, justificando seu uso, quase que exclusivamente, do ponto de vista comercial e tecnológico. Mesmo assim, os corantes são amplamente utilizados nos alimentos e bebidas devido à sua grande importância no aumento da aceitação dos produtos (TOLEDO; GUERCHON, 1990).

Celli e Brooks (2017) afirmam que o uso de betalaínas como pigmento em alimentos traz grandes benefícios à saúde daqueles que os ingerem, devido às suas propriedades antioxidantes, mas que a substituição dos corantes sintéticos pelos naturais é desafiadora. Sendo a beterraba a fonte mais utilizada para a obtenção de betalaínas.

Segundo Downham e Collins (2000), muitos estudos estão tentando demonstrar as reações adversas que os corantes podem causar a saúde, assim, o monitoramento dos teores destes em alimentos tem contribuído para alertar o consumo consciente desses produtos em alimentos e cada vez mais despertar os consumidores para o uso de alimentos naturais com propriedades que tragam benefícios a saúde.

3.2.3 Propriedades das betalaínas benéficas a saúde

Além das propriedades corantes, as betalaínas presentes na beterraba possuem uma vasta gama de atividades biológicas desejáveis, tais como atividades antioxidantes, anti-inflamatórias, bem como propriedades hepatoprotetoras e anticancerígenas (GEORGIEV et al., 2010, GENGATHARAN; DYKES; CHOO, 2015). Estudos com diferentes linhas celulares demonstraram o potencial das betalaínas na quimioprevenção do câncer a partir de experimentos em camundongos, mostrando que essas substâncias inibem a formação de tumores (GANDÍA-HERRERO; ESCRIBANO; GARCÍA-CARMONA, 2016).

Os nitratos presentes na beterraba têm a capacidade de baixar a pressão arterial, proteger contra danos por isquemia-reperfusão e modulação da função mitocondrial (SATYANAND et al., 2014). Ele reduz o mau colesterol, (LDL) e normaliza a pressão arterial (GULDIKEN et al., 2016). Extratos de beterraba têm atividade anti-hipertensiva e hipoglicêmica (NINFALI; ANGELINO, 2013). Além disso, a beterraba fornece fitoquímicos que estimulam a proteção hematopoiética, do sistema imunológico, dos rins e do fígado (MIRAJ, 2016).

Os fitoquímicos presentes na beterraba contribuem com a redução do estresse oxidativo associado à idade, bem como na manutenção das funções cognitivas como percepção, aprendizagem, comunicação e tomada de decisão. A beterraba é um gerador de óxido nítrico

(NO) com potencial para melhorar o fluxo cerebrovascular (PRESLEY et al., 2011). O consumo de beterraba aumentou o nível de nitrato no plasma em cerca de 96% (SATYANAND et al., 2014).

A suplementação dietética com suco de beterraba, impacta positivamente as respostas biológicas ao exercício e melhora a saúde cardiovascular (WYLIE et al., 2013). Suco de beterraba é relatado para ajudar na purificação do sangue e identificado como um grande construtor de sangue sendo rico em teor de ferro, regenera e reativa as células vermelhas do sangue e fornece oxigênio fresco para o corpo (COLES; CLIFTON, 2012). A beterraba contém macronutrientes e micronutrientes que são responsáveis por excelentes propriedades fisiológicas. O ácido fólico presente na beterraba ajuda a prevenir o câncer e a cooperação da vitamina B contribui para o bom funcionamento do sistema nervoso (SZEKELY et al., 2016). Chandran et al. (2012), concluíram que o consumo regular de produtos de beterraba nos alimentos protege contra doenças relacionadas ao estresse oxidativo e mantém uma boa digestão.

Pesquisas farmacológicas feitas por muitos pesquisadores alertaram que a beterraba era eficaz e vantajosa no tratamento de várias doenças. Além disso, efeitos anti-stress, anti-ansiedade e anti-depressivos do extrato de folhas de beterraba foram investigados em camundongos. Ele exibe atividade ansiolítica e antidepressiva em ratos estressados, juntamente com a boa propriedade antioxidante. A uridina, extraída pela beterraba sacarina, pode ser usada com ômega-3 para sobrecarregar ou prevenir a depressão, alterando o humor e relaxando o corpo (SULAKHIYA et al., 2016, MIRAJ, 2016).

No entanto, betalains e compostos fenólicos se degradam rapidamente devido à sua alta reatividade sob diferentes condições, tais como temperatura, pH, oxigênio e luz (KHAN, 2016). Portanto, a fraca estabilidade de betalaínas e compostos fenólicos é um grande desafio na extração, processamento e armazenamento do extrato de beterraba (MEREDDY et al., 2017).

3.2.4 Degradação das betalaínas

Betalaínas, assim como o restante dos pigmentos naturais, apresentam menor estabilidade quando comparadas a corantes sintéticos. Vários fatores afetam essa estabilidade, incluindo calor, oxigênio, luz, ação de enzimas e, embora as betalaínas apresentem estabilidade em uma ampla faixa de pH, condições de pH além dessa faixa podem levar à aceleração da degradação do pigmento (STINTZING; CARLE, 2004, SANTOS et al., 2017). Segundo Guldiken et al. (2016), os fatores que influenciam a estabilidade de antioxidantes ou pigmentos durante o processamento e armazenamento são pH, temperatura, atividade de água, oxigênio, metais e radiação iônica.

A estabilidade ótima das betalainas foi demonstrada na faixa de pH de 3 a 7, sugerindo seu uso em diferentes formulações de alimentos, especialmente em alimentos ácidos. Betalains são estáveis em extratos em pH 5, no entanto, abaixo de pH 3, a cor da betanina se move em direção violeta e acima de pH 7, mudança de cor para azul (WOOTTON-BEARD; MORAN; RYAN, 2011). No estudo realizado por Di Genoa et al. (2009), de influência do pH sobre estrutura de beterraba, relatou que a betanina (betacianina responsável pela coloração vermelha) mostrou-se mais estável em meios com pH numa faixa acima de 7.

Já o processamento térmico é geralmente usado no desenvolvimento de diferentes produtos processados. A temperatura afeta a estabilidade das betalaínas e o aumento da temperatura resulta na degradação das betalaínas, bem como na degradação das enzimas PPO (polifenol oxidase). No entanto, a degradação térmica também é afetada pela faixa de temperatura, extensão de aquecimento, presença de oxigênio e concentração de pigmentos (HERBACH; STINTZING; CARLE, 2006). Em condições de processamento de elevadas temperaturas ou meio excessivamente ácidos, pode ocasionar a degradação por glicólise, na qual a ligação da betanina com a glicose é quebrada, resultando em um deslocamento batocrômico (STINTZING; CARLE, 2004). Outro tipo de reação que pode levar à degradação de betalaínas é a hidrólise. Essa é uma reação de comum ocorrência durante tratamentos térmicos e provoca a quebra da ligação aldimina do pigmento. Essa quebra acarreta na separação da betanina em ácido betalâmico, com coloração amarela, e ciclodopa-5-O-glicosídeo (incolor), levando a uma redução no poder tintorial do corante e um deslocamento da cor para o amarelo ou marrom (HERBACH; STINTZING; CARLE, 2006).

As cores são oxidadas e degradadas na presença de luz. Existe uma relação inversa entre a intensidade da luz na faixa de 2200 a 4400 lux e a estabilidade da betalaína. A imersão

de luz na faixa UV e visível excita os elétrons do cromóforo da betalaína para um estado mais energético, iniciando uma maior reatividade ou diminuindo a energia de ativação da molécula. No entanto, o efeito da luz é insignificante sob condições anaeróbicas (PACIULLI et al., 2016).

Dessa forma, o método de extração das betalaínas deve ser escolhido de modo a minimizar os efeitos de degradação das mesmas, conhecendo-se as condições adequadas que favoreça a manutenção das propriedades e a cor das mesmas.

3.3 Métodos de extração de bioativos

Diversos fatores podem influenciar na obtenção de compostos bioativos, tais como: a metodologia de extração, natureza da matriz vegetal, tamanho das partículas, solvente utilizado, tempo e temperatura, tornando a extração uma etapa de grande importância para a obtenção de compostos funcionais, interferindo no isolamento, identificação e, por consequência, na utilização posterior dos mesmos (RADHAKRISHNAN et al., 2013). A técnica convencional de extração de compostos bioativos de origem vegetal é a extração sólido-líquido utilizando solventes orgânicos e uso de altas temperaturas (LAQUI-VILCA et al., 2018). As principais desvantagens desse método são o longo tempo de processamento, a degradação de compostos bioativos durante o processamento e o uso de solventes orgânicos tóxicos (ALBAHARI et al., 2018). Esta preocupação levou ao desenvolvimento de técnicas econômicas e eficientes para uma extração branda de compostos bioativos (LAQUI-VILCA et al., 2018).

Vários métodos de extração são aplicados para obtenção de bioativos; a extração sólido-líquido, por exemplo, pode utilizar água como solvente (CISSÉ et al., 2012) ou um solvente orgânico (ZAGHDOUDI et al., 2015). Pode-se citar, ainda, como métodos de extração, a aplicação de tecnologias não térmicas (BRIONES-LABARCA et al., 2015), tecnologias que utilizam o campo elétrico (LOGINOVA et al., 2011) e a aplicação do esmagamento, onde o alimento é submetido ao processo sem estar disperso em um meio ou um solvente (GONÇALVES et al., 2012).

Buscando melhorar a eficiência do processo de extração, diversos trabalhos têm reportado a utilização de ultrassom para extração de compostos bioativos a partir de matrizes vegetais (PORTO; PORRETTO; DECORTI, 2013, BOTH; CHEMAT; STRUBE, 2014, GHITESCU et al., 2015).

3.3.1 Extração assistida por ultrassom (EAU)

A extração assistida por ultrassom, como método alternativo de extração, melhora a taxa de extração via mecanismo de cavitação, quebrando as paredes celulares de matriz sólida, promovendo a penetração de solvente e transferência de massa (RIGHI; CAMILA; BOLANHO, 2018). Atualmente, a EAU de pigmentos vegetais emergiu como um método eficaz, uma vez que proporciona alto rendimento e menor tempo de extração (CHEMAT et al., 2017). A EAU foi relatada na literatura como método para extração de pigmentos de várias fontes vegetais (MERCADO-MERCADO et al., 2018; WIZI et al., 2018 ; GOULA et al., 2017). A eficiência do processo EAU é influenciado por parâmetros de extração, como tempo, temperatura, amplitude, ciclo e solvente. Portanto, para se obter o rendimento máximo, métodos estatísticos como delineamento do composto central rotacional (DCCR) e método de superfície de resposta (MSR) são aplicados para otimizar o processo (LAQUI-VILCA et al., 2018, SONG et al., 2018).

No método de extração assistida por ultrassom, usa-se um solvente, que muitas das vezes podem gerar resíduo tóxicos, causando problemas a saúde do manipulador, ou consumidor final, além de gerar mais custos no processo de extração. Sabendo disso, uma possível solução para essa problemática seria a extração com água como solvente, uma alternativa segura, de baixo custo e fácil disponibilidade para produtos hidrossolúveis.

Estudos anteriores utilizaram métodos de extração assistida por ultrassom para a extração de betalaínas e compostos fenólicos de casca de quinoa colorida (LAQUI-VILCA et al., 2018) e de beterraba vermelha (RIGHI et al., 2018). No entanto, a combinação do método de extração assistida por ultrassom com outras técnicas pode aumentar ainda mais a eficiência de extração de compostos bioativos, como betalaínas e compostos fenólicos, sem interferir na sua estabilidade (ALBAHARi et al., 2018).

O processo de EAU, dependendo das condições como amplitude, ciclo e tempo, provocam vibrações tão intensas das moléculas no líquido devido à sonicação direta, é conveniente resfriar o sistema durante a extração, pois a absorção da energia ultrassônica gera um aumento de temperatura (SHIRSATH; SONAWANE; GOGATE, 2012), o que pode resultar na degradação de substâncias termolábeis, sendo necessário o uso de banhos de gelo. Assim, como a temperatura de extração, outros parâmetros devem ser analisados quando se utiliza o ultrassom.

A técnica de extração assistida por ultrassom, mostra-se promissora para extração de betalaínas, mas devido à baixa estabilidade desse pigmento, o uso de técnicas como encapsulamento após o processo de extração desse pigmento, pode vir a ser eficaz no prolongamento da estabilidade desse corante.

3.4 Microencapsulamento

A microencapsulação pode ser considerada um processo de aprisionamento de um ingrediente ativo qualquer dentro de um material de revestimento, a fim de ser protegido contra fatores externos, tais como a luz, elevada concentração de oxigênio, calor e umidade, evitando a evaporação de compostos voláteis, mascarando sabores e odores desagradáveis, garantindo uma liberação controlada, além de permitir o desenvolvimento de produtos de alto valor agregado (COMUNIAN; FAVARO-TRINDADE, 2016).

Para a indústria de alimentos essa tecnologia tem sido bastante utilizada, uma vez que facilita a aplicação de ingredientes instáveis, além de melhorar o processamento e a textura dos ingredientes devido a uma menor higroscopicidade, aumento da solubilidade e capacidade de dispersão em diferentes tipos de materiais (COMUNIAN; FAVARO-TRINDADE, 2016). Além disso, existe a possibilidade de controle da liberação no local de ação dos compostos de interesse.

Materiais encapsulados são geralmente referidos como material do núcleo, ingrediente ativo, fase interna ou carga. São os compostos considerados sensíveis na presença de alguns fatores. São de interesse para a indústria de alimentos, porém, por suas características de sensibilidade, necessitam de proteção, sendo esta alcançada pela microencapsulação. Já os materiais encapsulantes são denominados como material de parede, agente carreador, fase externa, e são os responsáveis pela proteção dos agentes ativos e formando as micropartículas ou matrizes (KAUSHIK et al., 2015).

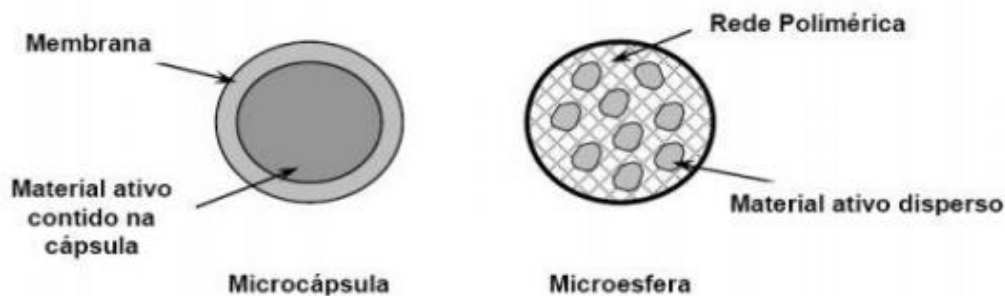
Existem diferentes desafios na formulação de compostos alimentares encapsulados. Um deles é a escolha de materiais a serem utilizados no processo de microencapsulação. Existem muitos tipos de polímeros que não podem ser aplicados em produtos alimentícios, o que limita a utilização de vários compostos. Além disso, a economia e as preocupações de comercialização de alimentos devem ser consideradas (COUPLAND; JULIS, 2014). No entanto, mesmo com vários desafios mencionados, a técnica de encapsulação tem sido cada vez

mais explorada, obtendo excelentes resultados na obtenção de ingredientes com recurso funcional.

Esta técnica pode ser realizada por uma ampla variedade de métodos e técnicas, proporcionando isolamento, aprisionamento, proteção ou liberação controlada de materiais sensíveis ou reativos, por exemplo, aromas e fragrâncias. Estas técnicas incluem a liofilização, inclusão molecular, inclusão em lipossomas, secagem em tambor, leito fluidizado, extrusão e atomização (MARTINS et al., 2014).

As partículas produzidas por métodos de encapsulação são conhecidas como microcápsulas, micropartículas ou microesferas, representadas na figura 4. Ambas as estruturas (microcápsulas e microesferas) são muito importantes para aplicações práticas e podem ter utilidades ou funcionalidades semelhantes ou diferentes. A liberação controlada do material ativo, por exemplo, depende da localização do composto dentro das microcápsulas e/ou microesferas (COMUNIAN; FAVARO-TRINDADE, 2016), além de fatores externos e do meio de aplicação.

Figura 4 Estrutura de micropartículas.



Fonte: Pimentel et al. (2007).

As microcápsulas são partículas tipo reservatório, onde o núcleo é cercado por uma parede protetora e podem ter um ou mais núcleos. Lipossomas, coacervação complexa, revestimento por pulverização e de inclusão molecular são exemplos de técnicas de encapsulação que produzem microcápsulas (XIAO, 2014). Microesferas ou micropartículas são partículas do tipo matriz, isto é, são estruturas onde o composto bioativo é espalhado por todo o volume da partícula, incluindo na sua superfície, sendo exemplos de técnicas que produzem este tipo de estrutura a gelificação iônica e a secagem por spray (SUAVE et al., 2006).

A diferença entre encapsulação, microencapsulação e nanoencapsulação está no tamanho da cápsula. Micropartículas são formadas com um tamanho entre 1 e 1000 μm (MARTINS et al., 2014). A microencapsulação pode ser considerada como um método alternativo para aumentar a estabilidade de compostos bioativos em condições ambientais adversas, tais como armazenamento e processamento, e para preservar a sua atividade antioxidante. Esta técnica tem sido utilizada para encapsulação de diversos produtos como óleos, flavorizantes, extratos de plantas, enzimas, entre outros (SOUZA et al., 2014).

3.4.1 Geleificação iônica

A geleificação iônica é uma das técnicas de microencapsulação baseadas na capacidade de reticulação de polieletrólitos na presença de íons multivalentes como Ca^{2+} , Ba^{2+} e Al^{3+} , podendo ser aplicada por extrusão ou emulsificação/geleificação (LUPO et al., 2015). O processo consiste basicamente no gotejamento ou aspersão de uma solução de polissacarídeo aniônico sobre uma solução catiônica, em concentrações apropriadas (AGUILAR et al., 2015). Com a microencapsulação por geleificação iônica, estruturas tridimensionais são formadas com um elevado teor de água e são responsáveis pela proteção do composto ativo (NAZARENO et al., 2016). A extrusão é o método mais comum para fabricar partículas de gel esféricas por meio do gotejamento de uma solução aquosa de polímero através de uma agulha de seringa ou um bocal em um banho de geleificação contendo CaCl_2 (PAQUES et al., 2014). O método de emulsificação/geleificação envolve basicamente a produção de uma emulsão que inclui o componente ativo hidrofóbico em uma solução de polímero e, em seguida, o gotejamento na solução de cálcio (PAQUES et al., 2014).

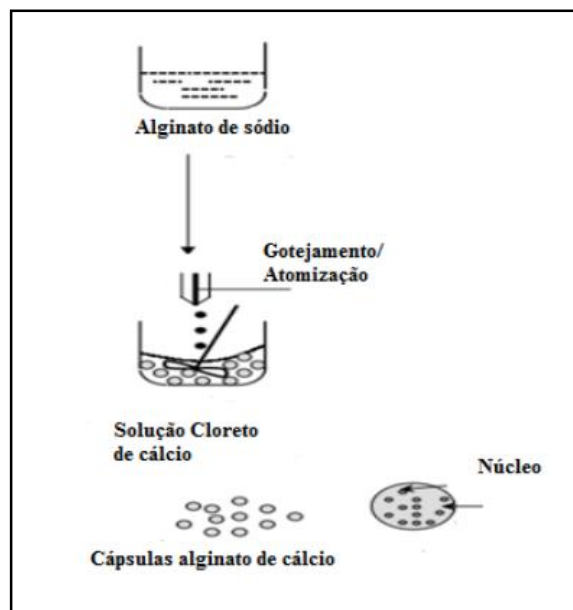
Alginato, quitosana, pectina, konjac, goma gelana e carboximetilcelulos são os polímeros mais empregados em sistemas de geleificação. Neste contexto, o alginato é o polímero mais comumente utilizado devido às suas propriedades não tóxicas, biodegradáveis e biocompatíveis, bem como propriedades superiores de geleificação sob condições seguras e suaves (LEONG et al., 2016). O alginato tem uma ampla gama de aplicações, incluindo imobilização enzimática e liberação controlada de drogas.

Existem dois tipos de geleificação iônica: a interna e a externa. A geleificação iônica interna produz partículas por meio da adição de sais de cálcio insolúveis em uma solução polimérica contendo material de núcleo, com posterior dispersão desta mistura em uma fase oleosa contendo surfactante. Para que a geleificação ocorra, adiciona-se uma solução ácida para

a redução do pH, a fim de liberar os íons cálcio, permitindo sua complexação com os grupos carboxílicos do alginato. Já a gelificação iônica externa é uma técnica onde partículas são produzidas pelo gotejamento de uma solução polimérica, geralmente negativamente carregada, em uma solução catiônica, normalmente contendo cálcio, com a gelificação ocorrendo através da difusão de cátions para dentro da solução de hidrocoloide (SCHOUBBEN et al., 2010). O método de gelificação externa além de simples, não necessita a utilização de solventes orgânicos, apresentando grande potencial para a aplicação nas áreas farmacêuticas, biomédicas e alimentícias (PATIL et al., 2010).

O contato de gotas de uma solução de alginato de sódio na presença dos íons de cálcio, por exemplo, resulta na formação instantânea de estruturas de hidrogéis insolúveis em água, como pode ser visto na figura 5. O composto ativo fica uniformemente disperso por toda a matriz de proteção (BENAVIDES et al., 2016). A interação de íons multivalentes com grupos carboxílicos das cadeias poliméricas resulta na formação de gel insolúvel, tornando possível obter microesferas de diferentes formas e tamanhos (NAZARENO et al., 2016).

Figura 5 Mecanismo de formação de micropartículas por gelificação iônica.



Fonte: Rocha, (2017)

Segundo Rocha (2007), um dos pontos centrais da utilização da técnica de gelificação iônica é a formação das gotas que serão dispersas na solução contendo os íons polivalentes. Esta etapa é totalmente responsável pelo tamanho e forma das microcápsulas e, conseqüentemente, irão direcionar a sua aplicação. Partículas de gelificação iônica podem ser

preparadas por três sistemas distintos, dependendo do tamanho desejado da partícula, podendo ser produzidas por extrusão, atomização por ar comprimido e por pulverização eletrostática.

No processo de extrusão, a solução, com o material de parede e o material de núcleo, é extrusada em uma solução iônica por meio de uma agulha, com ou sem velocidade controlada, que resulta em gotículas com diâmetros considerados grandes. Recentemente, tem-se utilizado um pulverizador eletrostático para a produção e, neste caso, o princípio básico do equipamento é o uso de uma força eletrostática para puxar gotas de uma agulha para um banho iônico. A formação das gotículas resultante da aspensão através de bicos concêntricos de pulverização promove a formação de um jato de líquido contendo o material de núcleo rodeado pela solução do material de parede, que se move através da quebra do ar formando gotas pequenas que caem na solução iônica, dando forma às microesferas (ROCHA, 2017).

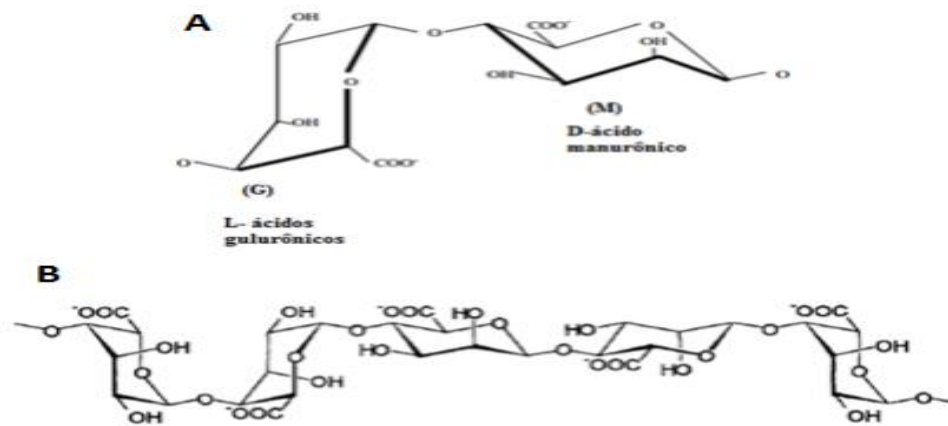
Geralmente, a gelificação interna tem sido sugerida como uma alternativa devido à sua maior eficiência de retenção de bioativos do que no caso da gelificação externa. Neste contexto, Lupo et al. (2014) realizaram um experimento com relação ao método de gelificação interna e encontraram 60% de retenção do extrato de cacau em microesferas à base de alginato de sódio. O método de gelificação interna é proposto como uma alternativa à gelificação externa para operar microesferas de alta qualidade com pequenos diâmetros (AHMED et al., 2013).

3.4.2 Alginato de Sódio

O alginato tem sido utilizado no campo farmacêutico e de alimentos, atuando nos processos de microencapsulação (ZIA et al., 2015). O alginato é um polissacarídeo hidrossolúvel de ocorrência natural encontrado em algumas bactérias e nas paredes celulares e intracelulares de algas marrons, principalmente *Laminaria hyperborea*, *Ascophyllum nodosum* e *Macrocystis pyrifera*. Possui cadeias lineares hidrossolúveis, se apresenta na forma de pó, é insípido, inodoro e possui coloração branca pálida ou marrom amarelado (SILVA; ANDRADE, 2012).

Quanto à característica química, os alginatos apresentam quatro locais reativos para contribuição em reações químicas. São polímeros lineares não ramificados, formados por ligações β - (1 \rightarrow 4) ligada ao D-ácido manurônico (estrutura M) e por ligações α - (1 \rightarrow 4) ligada ao ácido L-gulurônico (estrutura G, figura 6) (ZIA et al., 2015). Os alginatos são comercialmente disponíveis como sais de sódio, potássio, ou de amônio, e são produzidos em variedade de tamanhos (BUREY; BHANDARI; HOWES, 2012).

Figura 6 Estrutura (A) e conformação da cadeia (B) do alginato de sódio.



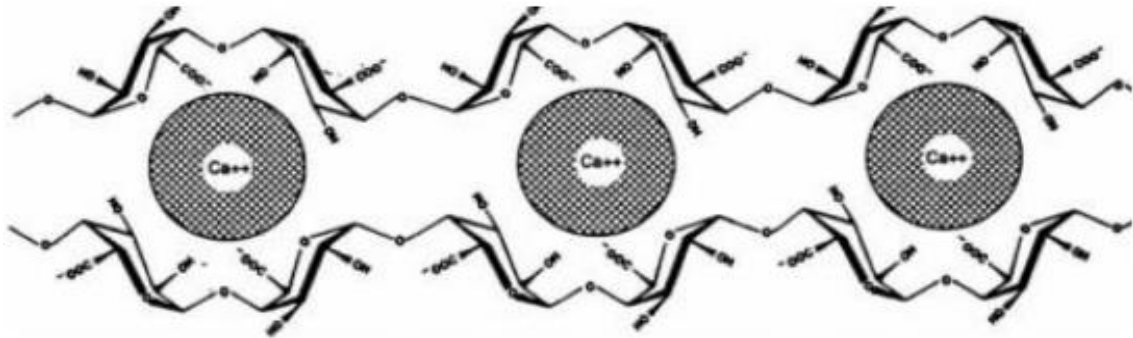
Fonte:A: Burey, Bhandari e Howes (2012), B: Rocha (2017).

A capacidade de gelificação de um polímero está relacionada com a sua composição (COMUNIAN; FAVARO-TRINDADE, 2016). Devido ao alginato de sódio apresentar cargas em sua estrutura, este polímero tem sido utilizado como materiais de parede em técnicas de encapsulação. Além do alginato de sódio apresentar boas propriedades como material de parede, ele ainda tem características semelhantes à pectina, que também pode ser aplicada no método de gelificação iônica.

Em contato com íons metálicos, como o cloreto de cálcio, proporciona uma ligação entre cadeias lineares, onde é formado um gel insolúvel em forma de esfera (SOUZA; ZAMORA; ZAWDZI, 2008). Para formar as micropartículas, a solução de alginato de sódio é gotejada em uma solução contendo cátions multivalentes (geralmente de Ca^{+2} , sob a forma de CaCl_2). As gotículas formam esferas de gel instantaneamente e aprisionam o composto de interesse em uma estrutura tridimensional formada após a troca de íons de sódio a partir dos ácidos gulurônico com cátions divalentes. Isso resulta em uma associação de cadeias que constitui o chamado modelo “caixa-ovo”, conforme apresentado na figura 7 (ZIA et al., 2015).

O uso do alginato como material encapsulante é muito importante, por ser um polímero natural de relativo baixo custo, de fácil obtenção, biocompatível, atóxico e biodegradável, que não necessita utilização de solventes orgânicos e nem condições rigorosas de temperatura para a formação das partículas (FUJIWARA et al., 2013).

Figura 7 Modelo “caixa de ovo” para formação de gel de alginato com íons de cálcio.



Fonte: Clark, Chen e Lin (1987).

3.4.3 Secagem por liofilização

Liofilização é um processo de múltiplos estágios que consiste em congelamento, sublimação (secagem primária), desorção (secagem secundária) e estágios de armazenamento, resultando em um material seco (LAOKULDILOK; KANHA, 2015). A composição e estrutura do material da parede têm um impacto profundo na proteção e liberação controlada do material do núcleo.

Em outro estudo, os polifenóis do chá verde foram encapsulados pela maltodextrina, β -ciclodextrina e a combinação de ambos para garantir a eficácia desses fitoquímicos em termos de atividade antioxidante contra as condições de alta temperatura e pH alcalino, as microcápsulas liofilizadas (valor CI50 54,77-60,26 $\mu\text{g} / \text{mL}$) exibiram maior atividade de eliminação de radicais DPPH em comparação com as microcápsulas secas por pulverização (valor CI50 58,13-72,86 $\mu\text{g} / \text{mL}$). Além disso, o material da parede também teve impacto sobre a atividade antioxidante e as microcápsulas à base de maltodextrina mostraram os materiais de parede mais altos do que os utilizados (PASRIJA et al., 2015).

A influência da técnica de liofilização no conteúdo de antocianinas de micropartículas secas também foi estudada por Yamashita et al. (2017), obtiveram micropartículas do extrato do subproduto da amora-preta, rico em conteúdo de antocianina, por liofilização usando maltodextrina 10 e 20 equivalente de dextrose (DE) como material de parede. Em relação ao conteúdo de antocianinas, um declínio significativo foi obtido após o processo de microencapsulação.

A vantagem mais significativa da liofilização é que ela é um processo simples realizado fora de uma temperatura baixa de operação com a ausência de produtos resultantes de produtos de qualidade prolongada e superior, evitando deteriorações causadas pela oxidação ou modificação química (ANWAR; KUNZ, 2011). A liofilização é a técnica mais adequada para a desidratação de quase todas as substâncias sensíveis ao calor, tais como óleos naturais, cores, aromas, drogas, bem como componentes solúveis em água (DESAI; JIN PARK, 2005). No entanto, a técnica de liofilização apresenta algumas desvantagens, como o longo tempo de processamento (mais de 20h), alto capital e custos operacionais em comparação com outros.

A estrutura porosa de pós liofilizados devido à sublimação do gelo durante o processo é também uma das maiores limitações (ANANDHARAMAKRISHNAN; RIELLY; STAPLEY, 2010). Devido ao fato de que os pós liofilizados devem ser triturados ou transformados em pós finos após a secagem, problemas relacionados com a falta de controle sobre o tamanho das partículas podem ser encontrados. Além disso, o material ativo dentro da matriz da cápsula é exposto à atmosfera a partir dos poros na superfície da partícula (BALDWIN; HAGENMAIER; BAI, 2011). Como resultado, a natureza do material a ser encapsulado, como sua estrutura porosa, parece ser o fator mais crítico a ser determinado para o uso dessa técnica, além de seu alto custo.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Matéria Prima

A matéria-prima (cascas) foi obtida como co-produto de uma indústria de alimentos local processadora de alimentos que utiliza beterraba (*Beta vulgaris* L.) em suas formulações. As cascas foram lavadas com água corrente para retirada de sujidades e trituradas em um processador de alimentos, em seguida foram separadas em três lotes de 900 gramas cada e congeladas a temperatura de -80 °C por 24 horas em ultrafreezer para serem submetidas ao processo de secagem em liofilizador Liobrás, modelo LP 510 Brasil. Após secagem, as cascas foram reduzidas a pó em moinho de facas, Marconi MA 048 Brasil, e armazenadas em potes plásticos, protegidos da luz sob temperatura média de -6°C em um congelador.

4.2 Delineamento Experimental

Nesta etapa foi utilizado o software STATISTICA® (versão 10) para gerar o planejamento experimental baseado no delineamento de composto central (DCC). Foram gerados 19 pontos experimentais para permitir a avaliação dos modelos linear e quadrático, com cinco repetições do ponto central para dar a estimativa do erro experimental. Os resultados do DCC foram analisados através da metodologia de superfície de resposta (MSR) com 3 variáveis independentes, amplitude do ultrassom, pH e tempo de extração, conforme mostra a tabela 2. Este modelo foi validado estatisticamente por (ANOVA) análise de variância ($P < 0.05$) e teste F. As variáveis dependentes, ou “respostas” pra avaliar o método de extração foram polifenóis totais, atividade antioxidante total (ABTS⁺) e quantificação de betalaínas.

Tabela 2 Variáveis independentes com suas respectivas variações e codificação.

	Axial (-)	Fatorial (-)	Central	Fatorial (+)	Axial (+)
Amplitude (%)	50	60,1	75	89,9	100
pH	3,0	4,0	5,5	7,0	8
Tempo (s)	300	603,6	1050	1496,4	1800

Fonte: elaborada pelo autor

4.3 Extração assistida por ultrassom (EAU)

Para os ensaios de extração, foi utilizado a proporção de 1:100 (m/v) de casca de beterraba seca (soluto): água destilada. Após diluição da matéria prima, as soluções tiveram seu pH ajustado com solução de ácido ascórbico 0,2M. O equipamento empregado foi o processador ultrassônico modelo UP 400S (Hielscher Ultrasonics GmbH, Teltow, Alemanha), adaptado com uma sonda cilíndrica de titânio de 22 mm de diâmetro e comprimento aproximado de 200 mm. Em seguida, o extrato foi centrifugado por 10 minutos a 10.000 rpm, filtrado em malhas de aço (0,18 mm diâmetro do fio e 0,25 mm de diâmetro de abertura) e armazenado a temperatura de 8°C em fase líquida sob abrigo de luz para realização de análises.

Os 19 tratamentos gerados pelo DCC foram analisados quanto a quantidade de betalaínas, polifenóis totais, atividade antioxidante e intensidade de cor, conforme metodologia descrita nos itens 4.9, 4.10, 4.11 e 4.12 respectivamente. Foram selecionadas quatro tratamentos com melhores respostas de acordo com o resultado das variáveis dependentes para serem encapsulados.

4.4 Encapsulamento

Para esse processo foi utilizado um encapsulador Büchi B-395 pro (Büchi Labortechnik AG, Dettlikon, Suíça), onde foram testados vários parâmetros até se obter a configuração ideal para produção das microesferas. O tamanho do bico usado foi o de 450µm, a frequência vibracional (Hz) que influencia o diâmetro do cordão foi de 100 Hz, a vazão foi estabelecida em 30mL/min – conforme recomendado pelo fabricante para o bico de 450µm – e no eletrodo foi utilizado carga eletrostática de 300V. Todo o processo de encapsulamento foi realizado sob agitação de 70%, com o auxílio de uma bomba a vácuo, responsável por estabelecer a alimentação do sistema, puxando a solução do recipiente, passando pelo bico e caindo na solução salina, responsável pela reticulação das microesferas.

Os extratos líquidos com melhores resultados em relação a quantidade de betalaínas, polifenóis totais, atividade antioxidante e intensidade de cor foram escolhidos e misturados a uma solução de alginato de sódio a 0,75% (polímero utilizado como agente carreador ou material de parede) na proporção de 1:1 (v/v) sob agitação durante 5 minutos. Em seguida, a emulsão foi levada ao encapsulador, onde ocorreu a formação das microesferas em solução salina de gluconolactato de cálcio 3% (agente reticulante utilizado devido seu sabor

salgado menos acentuado, dispensando a necessidade de lavagem das micropartículas). As micropartículas foram peneiradas para retirada do excesso de gluconolactato, armazenadas em recipientes de alumínio devidamente protegidos da luz e levados imediatamente ao ultrafreezer a -80°C para serem submetidas ao processo de secagem em liofilizador Liobrás, modelo LP 510 Brasil. Após o processo de secagem, as cápsulas foram novamente peneiradas e armazenadas sob refrigeração para serem analisadas.

4.5 Análise de imagem

O tamanho e a forma das cápsulas foram analisadas por meio de análise digital de imagens, capturadas por uma câmera digital (Canon digital camera, 3.2 Mpix Power Shot A70; Canon Inc., Malaysia; com zoom fixado em 5x) acoplada a um microscópio binocular (Unitron MS, Unitron Inc., New York, USA; ampliação em 5x) e analisadas pelo software ImageJ (licença livre), conforme descrito por Calvo e Santagapita (2016). Circularidade e diâmetro de Feret foram calculados, com uma quantidade de 56 amostras. O software foi calibrado para transformar os pixels medidos em unidade de comprimento (μm).

4.6 Umidade Relativa (UR)

Para determinar o teor de umidade das cápsulas contendo o corante natural, foi utilizado o método gravimétrico segundo a Associação de Químicos Analíticos Oficiais (AOAC, 2007) para alimentos. A percentagem de perda de peso foi obtida após secagem de 2,5g a 105°C até obtenção de peso constante.

4.7 Atividade de água (A_w).

A atividade de água (A_w) foi realizada pesando-se 1g da amostra em triplicata e levadas ao higrômetro Hygropalm AW1 (Rotronic Instruments, Huntington, NY, EUA), onde foram realizadas as leituras sob temperatura de 30°C .

4.8 Quantificação de betalainas totais

O método espectrofotométrico descrito por Elbe et al. (2001) foi utilizado para determinar o conteúdo de betalainas totais, através da soma entre betacianinas (pigmento violeta) e betaxantinas (pigmento amarelo), expressas em termos de betanina e vulgaxantina-I, respectivamente. Todos os resultados foram apresentados em base seca (bs). As amostras, tanto do extrato líquido, como das cápsulas, foram diluídas 100 vezes em tampão fosfato 0,05 M (pH 6,5), e utilizando um espectrofotômetro (Shimadzu UV-VIS, SP 2000), as absorbâncias foram medidas a 538 nm (betanina), 476 nm (vulgaxantina-I) e 600 nm (para correção dos valores de absorbância, devido a pequenas quantidades de impurezas). As equações usadas para o cálculo são descritas abaixo.

$$C_B = \left\{ \frac{1095 \cdot (A_{538} - A_{600}) \cdot f_d \cdot 1000}{1120} \right\} \cdot \left(\frac{1}{TST} \right)$$

$$C_{V-I} = \left\{ \frac{(A_{476} - 0,258 \cdot A_{538} - 0,742 \cdot A_{600}) \cdot f_d \cdot 1000}{750} \right\} \cdot \left(\frac{1}{TST} \right)$$

$$C_T = C_B + C_{V-I}$$

Onde C_B é a concentração de betanina, C_{V-I} é a concentração de vulgaxantina-I, e C_T é a concentração total de betalainas, todos expressos em mg /100g bs. Os valores de 1,095, 0,258 e 0,742 correspondem a fatores de correção e o termo f_d representa o fator de diluição. Os valores 1120 e 750 são de absorvidade ($A^{1\%}$) para betanina e vulgaxantina-I em comprimentos de onda de 538 e 476 nm, respectivamente. Para obter os resultados em base seca, a concentração de pigmento foi dividida pelo teor de sólidos totais (TST), calculado para cada tratamento através do peso obtido da teor de sólidos adicionados no processo de extração.

4.9 Quantificação de polifenóis totais

Os polifenóis totais extraíveis foram determinados por meio do reagente de Folin-Ciocalteu, conforme metodologia descrita por Larrauri et al. (1997). A determinação dos polifenóis foi determinada usando alíquotas de 0,5mL do extrato líquido, completando-se com 2,5mL de água destilada, 1mL de reagente Folin-Ciocalteu e 2mL de carbonato de sódio (NaCO_3 20%). Em seguida, foram homogeneizados em vortex e deixados em repouso por 30

minutos na ausência de luz à temperatura ambiente. Decorrido o tempo, a leitura foi realizada em leitor de microplaca UV/VIS (Sinergy Mx; BioTeK®, EUA), a 700 nm, usando curva padrão de ácido gálico, com concentrações de 10, 20, 30, 40 e 50µg /g, como referência.

Para a obtenção dos resultados de polifenóis totais das cápsulas, as mesmas foram diluídas em água destilada na proporção de 1:50 (m/v) e retirada a alíquota de 0,3mL da diluição, sendo completada com 2,7mL de água destilada e adicionada dos demais reagentes.

4.10 Atividade antioxidante

A atividade antioxidante foi estimada pelo método ABTS^{•+} equivalente ao Trolox de acordo com procedimento proposto por Re et al. (1999). O radical ABTS^{•+} foi preparado a partir da reação de 7µM de solução aquosa de ABTS com 140µM de persulfato de potássio, deixando a mistura à temperatura ambiente por 16 horas, na ausência de luz. Em seguida, a solução de ABTS^{•+} foi diluída com etanol para obter uma absorbância de $0,70 \pm 0,05$ a 734 nm. Alíquotas de 100, 200 e 300µL de amostra do extrato líquido foram adicionadas a solução de ABTS^{•+}, enquanto as micropartículas foram diluídas na proporção de 1:50 (m/v) e retiradas as mesmas alíquotas para adição em solução de ABTS^{•+}. As absorbâncias da mistura foram registradas ao final de seis minutos. A capacidade antioxidante foi calculada utilizando-se curva padrão de Trolox (100 a 2000 µM) e suas respectivas porcentagens de inibição, e os resultados do ensaio expressos em µg de Trolox equivalente por grama de amostra (µg TEAC g⁻¹).

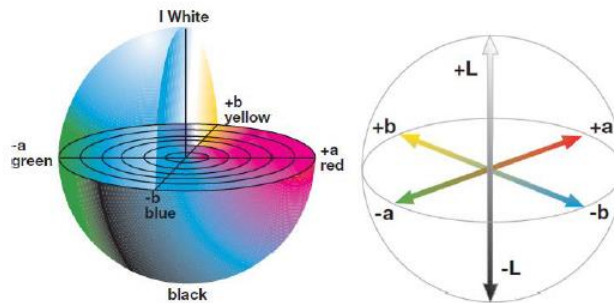
4.11 Colorimetria

As medidas colorimétricas do extrato líquido das cascas da beterraba antes de serem liofilizadas foram obtidas por meio de colorímetro (marca Hunter Lab, modelo Ultra Scan Pro D65, Reston, Virginia, USA), utilizando cubeta de 50 x 50 mm, com volume de aproximadamente 30mL. As coordenadas L*, a*, b* descrevem a uniformidade da cor no espaço tridimensional, em que o valor L* corresponde a quão claro e quão escuro é o produto analisado (0: preto; 100: branco), os valores de (a*) correspondem à escala do verde ao vermelho (a* negativo; verde, a* positivo; vermelho) e os valores de (b*) correspondem à escala do azul ao amarelo (b* negativo; azul, b* positivo; amarelo). O ângulo Hue (ho) é o ângulo formado entre a* e b*, indicando a saturação da cor do objeto. Pode variar de 0 a 360°, sendo que 0° corresponde à cor vermelha, 90° ao amarelo, 180° ao verde e 270° ao azul. De

acordo com o sistema CIELAB, se o ângulo estiver entre 0° e 90°, quanto mais próximo ao 0° mais vermelho, e quanto mais próximo ao 90° mais amarelo.

Para as cápsulas, o corante foi diluído em água destilada na proporção de 1:100 (m/v) e em seguida levado ao colorímetro para ser analisado.

Figura 8 Parâmetros de cor segundo método CIELAB.



Fonte: Minolta (1998)

4.12 Taxa de retenção (TX%)

A análise foi realizada conforme a metodologia descrita por Calvo, Perullini e Santagapita (2018) com modificações, onde inicialmente as cápsulas foram dissolvidas em solução aquosa, sendo primeiro adicionado de água destilada, até completa dissolução. A solução foi homogeneizada e deixada em repouso por 72 horas. Em seguida, as amostras passaram por uma filtração utilizando malhas de aço de 0,2 µm, a fim de remover o excesso de alginato. Para a medição do teor de compostos foi utilizado um espectrofotômetro (Shimadzu UV-VIS, SP 2000) a 510 nm (cianidina-3 glicosídeo). A eficiência do encapsulamento (EE) foi calculada de acordo com a seguinte equação:

$$TX (\%) = \frac{\text{teor de composto bioativo liberado}}{\text{teor inicial de composto bioativo antes da encapsulação}} \times 100$$

4.13 Estabilidade do corante encapsulado

O estudo foi realizado conforme Santos et al. (2017) com modificações. O experimento foi realizado na ausência e presença de luz, através da quantificação de betalaínas totais, conforme descrito no item 4.8. As amostras foram adicionadas individualmente em

placas de Petri, e acondicionadas em temperatura ambiente. A cada 3 dias durante o período total de 15 dias, foi realizada a análise de quantidade de betalaínas totais (ELBE et al., 2001). A condição de ausência de luz foi estabelecida pela acomodação das placas envolvidas por papel alumínio contendo as amostras em caixas totalmente vedadas, mantidas em ambiente com pouca iluminação. Para a condição de luminosidade as placas foram colocadas em placas transparentes em ambiente aberto.

4.14 Taxa de degradação

A degradação das betalaínas durante o período de armazenamento foi avaliada através da taxa de degradação (TD), conforme Antigo, Bergamasco e Madrona (2018) com modificações, a qual relaciona a variação da concentração de betalaínas ao longo dos dias de armazenamento. A DR (mg de betalaína/100g de extrato por dia) é calculada utilizando a equação 4.5:

$$TD(\%) = \frac{C_i - C_f}{C_i} \times 100$$

Onde C_i é a concentração inicial de betalaínas nas cápsulas (mg de betanina/100g de) e C_f é a concentração após o armazenamento.

4.15 Análise Sensorial

Foram pesadas 0,1875g de micropartículas contendo corante e pó das cascas da beterraba (*Bea vulgaris* L.) obtidos por liofilização e misturadas a um iogurte natural caseiro de coloração branca. Em seguida, foram submetidos a análise sensorial visual no Laboratório de Análise Sensorial do Instituto de Cultura e Arte (ICA) da Universidade Federal do Ceará, por 110 provadores não treinados.

Inicialmente, os voluntários preencheram uma ficha respondendo nome, idade, gênero, termo de consentimento livre e perguntas sobre a frequência de consumo de iogurte. As amostras foram servidas à temperatura ambiente, em recipientes codificados e sob a orientação de analisar da esquerda pra direita. Foi aplicado um teste de aceitação dos produtos, onde os voluntários responderam o nível de aceitação dos atributos impressão global, aparência, cor e aroma, fazendo uso de escala hedônica estruturada de 9 pontos, onde 9 corresponde a “gostei extremamente” e 1 “desgostei extremamente” (MEILGAARD; CIVILLE; CARR, 1991).

Para o estudo da influência do perfil sensorial das amostras, foi realizada análise de componentes principais através do método CATA (*check-all-that-apply*) (MEYNER; CASTURA, 2014), em que os provadores marcaram os termos descritores que identificavam estar relacionados aos atributos avaliação global, cor, aparência e aroma de cada amostra. Na mesma ficha, responderam um teste quanto a idealidade da cor das amostras, em uma escala de 5 pontos.

4.16 Estatística

As análises estatísticas foram desenvolvidas utilizando-se o programa STATISTICA[®] versão 10 (2011). O experimento foi realizado em três repetições e para cada repetição foram realizadas análises em triplicata. Os resultados obtidos foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey, com 95% de confiança ($p < 0,05$). O coeficiente de correlação de Pearson (r) que mede o grau de relação linear entre duas variáveis, foi utilizado para determinar a correlação entre o teor de betalaínas totais, polifenóis totais e atividade antioxidante do extrato da beterraba com 95% de confiança ($p < 0,05$). Além disso para análise dos dados da sensorial foi realizado uma análise de correspondência utilizando o XLSTAT[®]

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Etapa 1 –Extração assistida por ultrassom através de DCCR

Dependendo da amplitude e ciclo, o equipamento de ultrassom pode atingir altas temperaturas em pequenos períodos de tempo, o que poderia tornar o método de extração assistida por ultrassom (EAU) inviável para obtenção de betalaínas, uma vez que, altas temperaturas, pH e exposição a luz, são fatores que afetam a estabilidade das betalaínas (KHAN, 2016). Contrapondo esse pensamento, os resultados apresentados na tabela 3, obtidos por EAU foram satisfatórios uma vez que, a temperatura dos extratos foram mantidas em torno de $30 \pm 5^\circ\text{C}$ para todas as variações de tempo, com ciclo determinado em 0,5 e todas as amostras cobertas com papel alumínio, para minimizar o efeito da luz durante o processo de extração.

Tabela 3 Resultados do Delineamento de Composto Central Rotacional (DCCR) para as variáveis dependentes e independentes.

Delineamento	Variáveis independentes codificadas			Variáveis dependentes ou resposta					
	x1	x2	x3	Amplitude (%)	pH	Tempo (s)	Polifenóis totais (mgGAE*/100g)	Atividade antioxidante ($\mu\text{gTEAC}^{**}/\text{g}$)	Quantidade de betalaínas (mg/100g)
1	-1	-1	-1	60,1	4,0	603,6	347,6 \pm 1,2	12,20 \pm 0,12	127,95 \pm 4,88
2	-1	-1	1	60,1	4,0	1496,4	423,6 \pm 2,0	18,98 \pm 0,12	93,69 \pm 10,09
3	1	-1	-1	89,9	4,0	603,6	565,2 \pm 2,0	37,3 \pm 0,56	392,34 \pm 7,01
4	1	-1	1	89,9	4,0	1496,4	249,9 \pm 2,0	15,84 \pm 0,07	32,21 \pm 2,40
5	-1	1	-1	60,1	7,0	603,6	573,9 \pm 3,1	39,23 \pm 0,08	322,71 \pm 3,78
6	-1	1	1	60,1	7,0	1496,4	637,2 \pm 2,0	72,73 \pm 0,10	368,85 \pm 10,41
7	1	1	-1	89,9	7,0	603,6	662,8 \pm 3,5	100,22 \pm 0,41	379,86 \pm 13,48
8	1	1	1	89,9	7,0	1496,4	689,9 \pm 3,1	73,3 \pm 0,56	420,64 \pm 0,65
9	0	-1,68	0	75,0	3,0	1050,0	249,5 \pm 2,0	31,46 \pm 0,20	47,60 \pm 1,27
10	0	1,68	0	75,0	8,0	1050,0	671,9 \pm 2,3	71,39 \pm 1,15	451,19 \pm 2,35
11	-1,68	0	0	50,0	5,5	1050,0	516,6 \pm 1,2	33,05 \pm 0,17	280,30 \pm 8,41
12	1,68	0	0	100,0	5,5	1050,0	658,1 \pm 3,1	42,24 \pm 0,13	405,09 \pm 7,96
13	0	0	-1,68	75,0	5,5	300,0	548,1 \pm 1,2	59,39 \pm 0,20	262,93 \pm 2,86
14	0	0	1,68	75,0	5,5	1800,0	522,5 \pm 3,1	59,78 \pm 0,29	339,31 \pm 15,20
15	0	0	0	75,0	5,5	1050,0	591,5 \pm 2,0	65,59 \pm 0,16	348,05 \pm 18,04
16	0	0	0	75,0	5,5	1050,0	572,5 \pm 3,0	64,82 \pm 0,12	333,83 \pm 13,02
17	0	0	0	75,0	5,5	1050,0	531,8 \pm 3,0	74,80 \pm 0,19	307,73 \pm 7,35
18	0	0	0	75,0	5,5	1050,0	548,0 \pm 2,0	67,44 \pm 0,17	262,20 \pm 2,32
19	0	0	0	75,0	5,5	1050,0	520,1 \pm 2,0	66,49 \pm 0,28	306,48 \pm 1,92

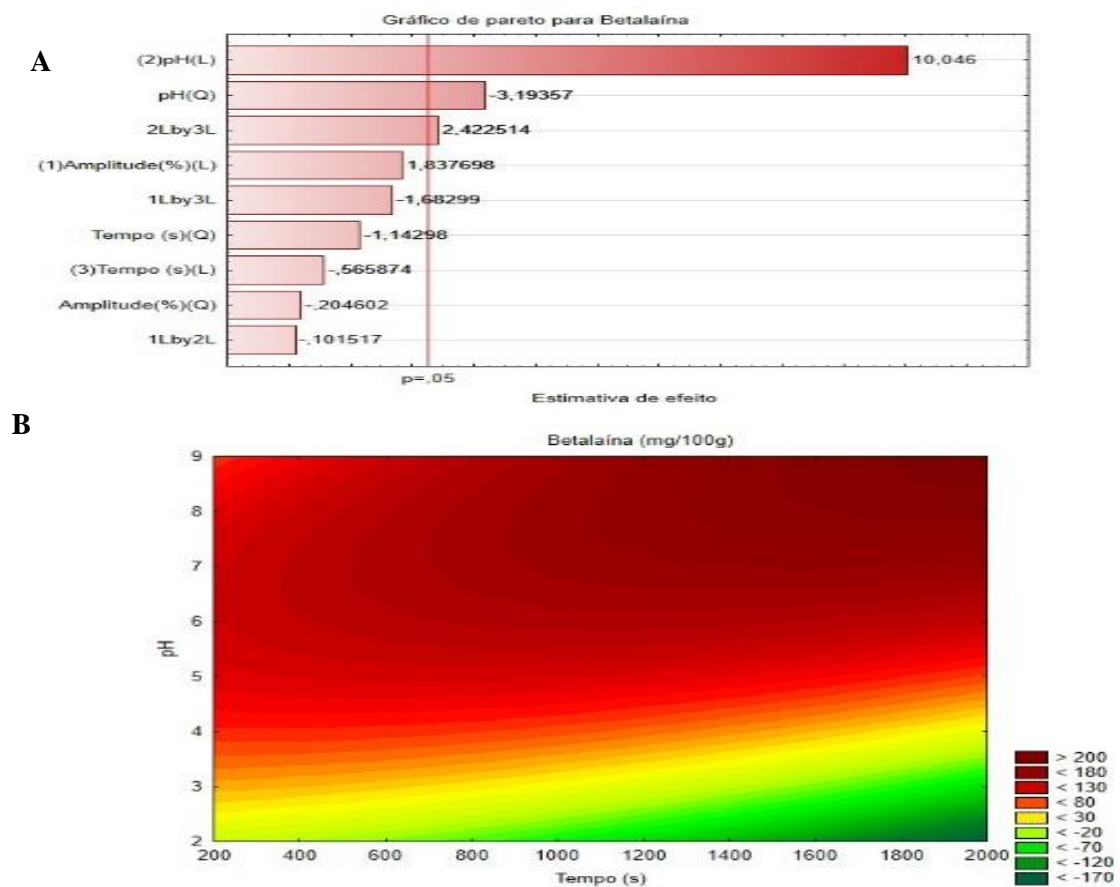
*GAE: equivalentes de ácido gálico. **TEAC: equivalente de trollox

Os quatro modelos lineares e quadráticos foram testados para todas as variáveis dependentes, sendo que o modelo linear quadrático com efeitos de 2º ordem obteve r^2 acima de 90% para todas as respostas, significância de termos independentes ao nível de 95% de probabilidade ($p < 0,05$) e preditividade comprovada pelos gráficos e pelos valores da falta de ajuste.

5.1.1 Quantificação de betalaínas totais

Os resultados de betalaína expressos na tabela 3, mostram que os tratamentos com pH acima de 5 obtiveram valores de betalaínas acima de 200mg/100g de extrato, sendo o maior valor ($451,19 \pm 2,35$ mg/100g) do tratamento 10 com maior alcalinidade (pH=8). Corroborando com Di Genoa et al. (2009), que em seu estudo de influência do pH sobre a estrutura da betanina, relatou que a mesma (betacianina é a responsável pela coloração vermelha) mostrou-se mais estável em meios com pH entre 5 e 8. Estudos anteriores também relataram a maior estabilidade das betalaínas em meios com pH entre 5 e 7 (KHAN, 2016 e ANTIGO; BERGAMASCO; MADRONA, 2018). Os resultados foram confirmados pelos gráficos de superfície de resposta, conforme mostra o gráfico 1.

Gráfico 1 Diagrama de Pareto e gráfico de superfície de resposta de tempo x pH para quantificação de betalaínas totais.



A: Diagrama de Pareto, **B:** Gráfico de superfície de Resposta de tempo(s) x pH.

O modelo matemático linear quadrático com 2 efeitos gerou um R^2 de 93%, $F(100,92) > F_{\text{crítico}}$ e $P(0,0000034)$ para o efeito pH linear. Através do diagrama de Pareto (figura 9A), pode-se confirmar que os efeitos pH e a interação de tempo e pH influenciaram significativamente ($p < 0,05$) de forma linear positiva na quantidade de betalaína extraída pelo método de EAU, ou seja, quanto maior o valor de pH e tempo dentro do experimento, maior a quantidade de betalaínas extraídas, exemplificados nos gráficos de superfície de resposta (gráfico 1B), pela região vermelho escuro.

Antigo, Bergamasco e Madrona (2018) em seu estudo sobre o efeito do pH na estabilidade de micropartículas obtidas do extrato de beterraba vermelha (*Beta vulgaris* L.) por meio de secagem por liofilização, observaram que as micropartículas com pH com faixa entre de 6 a 8 obtiveram maiores porcentagens em relação a estabilidade das betalaínas. Isso se dá, principalmente, por conta das baixas temperaturas empregadas no método de liofilização em relação a outros métodos de secagem.

Carmo et al. (2018) em seu experimento com extrato de beterraba seco por pulverização obtiveram valor máximo de betalaína de $385,47 \pm 3,30$ mg/100g e $155,37 \pm 3,28$ para betanina com a mesma metodologia de quantificação de betalaínas proposta por Elbe et al. (2001) também utilizada no presente estudo; valores próximos aos encontrados no presente estudo, porém inferior ao teor de betalaínas do tratamento 10 ($451,19 \pm 2,35$ mg/100g) e do tratamento 8 ($420,64 \pm 0,65$ mg/100g), podendo ser justificado pelo método de extração empregado. EAU trata-se de um dos métodos mais eficientes para extração de compostos bioativos de matrizes vegetais segundo Chemat et al. (2017).

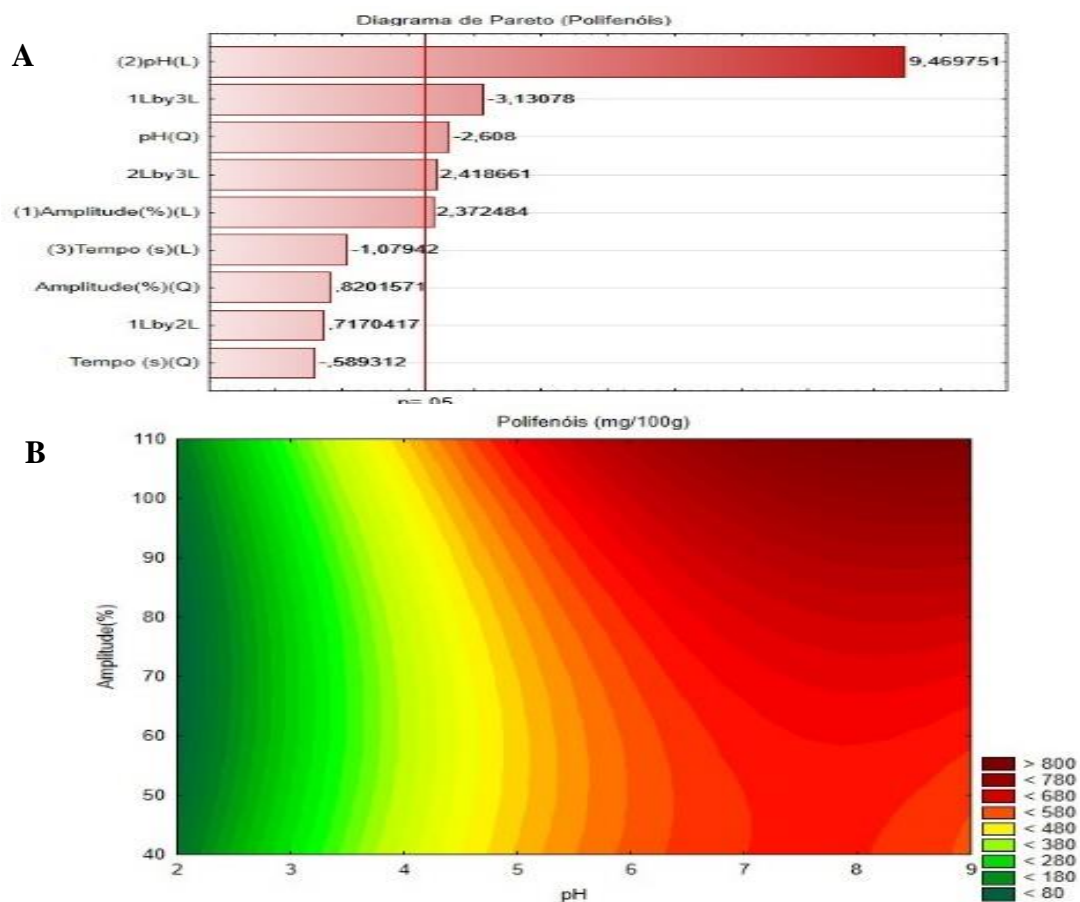
Já no estudo de Sharmilla et al. (2019), o valor máximo de betalaína extraído por ultrassom foi de $94,0 \pm 2,0$ mg/100g, inferior ao a quantidade de betalaínas obtido no tratamento 10 do presente estudo. Porém, nesse caso, os autores extraíram pigmentos amarelos (betaxantinas) de pétalas florais *Tecoma castanifolia* e concluíram que o método de EAU foi eficaz.

Os valores obtidos também foram condizentes a conclusão de Stintzing e Carle (2008), o qual relataram que o bulbo da beterraba vermelha apresenta teores entre 80 a 500 mg de betalaína para cada 100g de extrato, o que torna as cascas que envolvem o bulbo das beterrabas, através de EAU uma fonte potencial de betalainas.

5.1.2 Quantificação de polifenóis totais

Conforme a tabela 3, pode-se observar que o teor de polifenóis variou de $249,5 \pm 2,0$ mgGAE/100g à $689,9 \pm 3,1$ mgGAE/100g, onde os tratamentos 7, 8 e 10 obtiveram as maiores concentrações e os tratamentos 1, 4 e 9 obtendo menores concentrações. O gráfico 2A mostra os fatores que afetaram significativamente nos resultados.

Gráfico 2 Diagrama de Pareto e gráfico de superfície de resposta de amplitude do ultrassom x pH para quantificação de polifenóis totais.



A: Diagrama de Pareto, B: Gráfico de superfície de Resposta de amplitude (%) x pH.

De acordo com o diagrama de Pareto gráfico 2A, a variável pH ($p=0,000006$) foi o efeito que mais influenciou para os valores de polifenóis, embora o efeito amplitude ($p=0,040$) e interação de pH x tempo ($p=0,038$), também tenham sido significativos ($p<0,05$) de forma linear e positiva, ou seja quanto maior o valor de amplitude, maior a quantidade de polifenóis extraídos, bem como a interação entre tempo e pH, quanto maior o pH e o tempo, maior a

quantidade de polifenóis. O modelo linear quadrático com efeitos de 2º ordem foi preditivo, evidenciado pelo $R^2 = 93\%$.

O gráfico 2B mostra através das áreas avermelhadas que quanto maior o valor da amplitude do ultrassom, maiores foram as quantidades de polifenóis extraídos na faixa de pH de 6-8, resultados semelhantes aos de betalaínas discutidas no tópico 5.1.1. Os polifenóis, assim como as betalaínas são compostos facilmente degradados por agentes como alta temperatura, oxigênio, umidade, pH e presença de luz (CHHIKARA et al., 2019). Dessa forma, uma maior amplitude por um maior tempo de extração por exemplo, poderiam ser ofensivos quanto a degradação dos compostos fenólicos devido principalmente, ao aumento de temperatura, fato esse que não ocorreu por conta do controle da temperatura com auxílio do banho de gelo, mantendo a temperatura do extrato em torno de 30 °C, resultando em um alto nível de extração desses compostos pelo equipamento de ultrassom. As condições ótimas de extração apresentadas no gráfico 2B e o tratamento 8 que apresentou maior quantidade de polifenóis, uma vez que, podem ser justificados pela combinação do tratamento com a amplitude de 89%, valor de pH 7,0 e 1496,4 segundos como tempo de extração do delineamento.

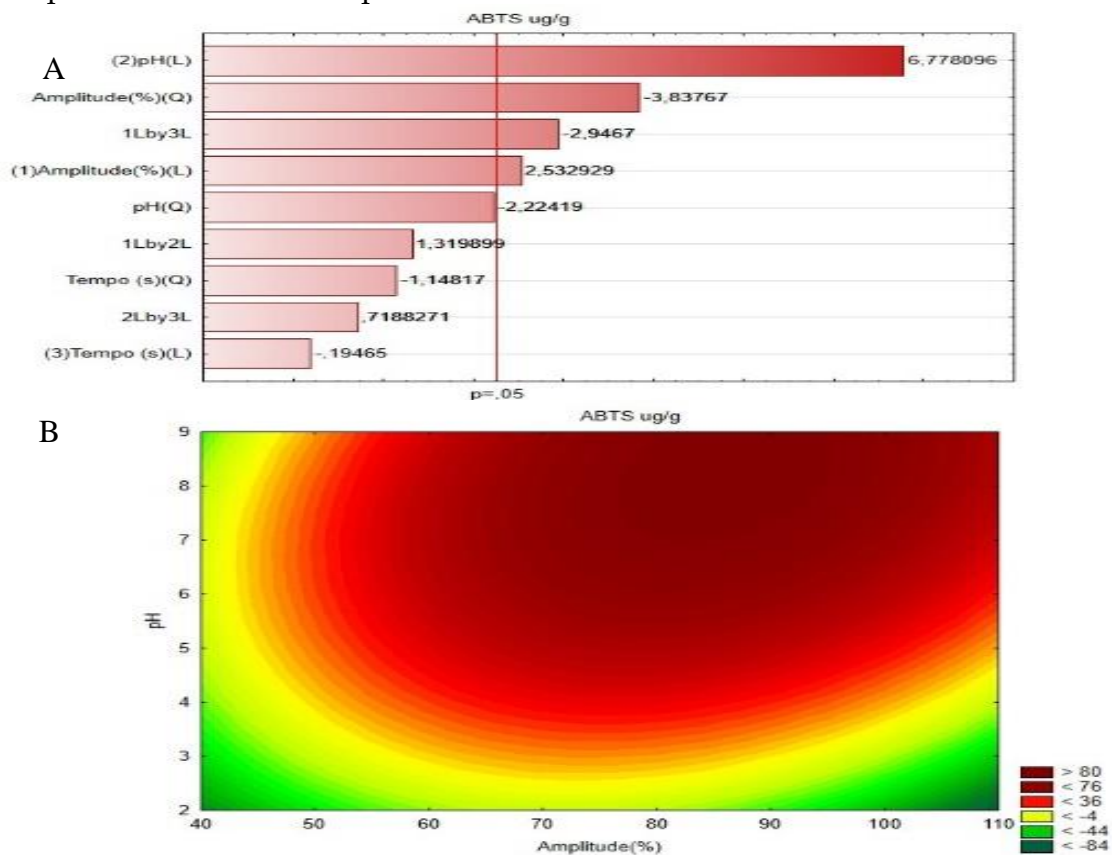
Melo e Faria (2014) quantificaram compostos fenólicos de partes comestíveis não convencionais de seis olerícolas, beterraba (536mgGAE/100g), repolho (527 mgGAE/100g), couve (501mgGAE/100g) e cenoura (354mgGAE/100g), pelo mesmo método do presente estudo, onde o tratamento 8 ($689,9 \pm 3,1$ mgGAE/100g) obteve valor superior aos demais tratamentos. Gorbunova et al. (2018), compararam a método de centrifugação com solvente e EAU para polifenóis totais em extratos de beterraba e em todas as situações o método de EUA mostrou-se mais eficiente.

Em relação ao solvente, a água foi utilizada como solvente para extração de polifenóis da folha das beterrabas, devido sua fácil disponibilidade, ausência de toxicidade e baixo custo, embora tenha obtido valores levemente menores para extração de polifenóis em relação ao álcool, ácido fórmico e hidróxido de sódio (GORBUNOVA et al., 2018). Corroborando com o presente estudo que obteve altos níveis de extração de compostos fenólicos utilizando água como solvente e extração assistida por ultrassom.

5.1.3 Atividade antioxidante

O tratamento 7 obteve a maior atividade antioxidante ($100,22 \pm 0,41 \mu\text{gTea/g}$) em relação aos demais tratamentos, conforme mostra a tabela 3, provavelmente por conta da interação entre amplitude e pH que tiveram seus valores dentro da faixa ótima de extração mostrados no gráfico 3B. O tempo de extração mais curto, pode ser um fator que influenciou na extração, uma vez que, deve ser levado em consideração, que os extratos vegetais são instáveis, podendo sofrer degradação por conta do pH fora da faixa de estabilidade, temperatura, luz, oxigênio e outros fatores externos (CAROCHO; MORALES; FERREIRA, 2015). Através do gráfico 3 podemos analisar quais variáveis independentes mais influenciaram na atividade antioxidante nos extratos.

Gráfico 3 Diagrama de Pareto e gráfico de superfície de resposta de pH x amplitude do ultrassom para o resultado de atividade antioxidante.



A: Diagrama de Pareto, **B:** Gráfico de superfície de Resposta de amplitude (%) x pH.

De acordo com o gráfico 3A, as variáveis independentes pH ($p= 0,000081$ e $F= 45,942$) e amplitude ($p=0,00398$ e $F=6,415$) interferiram significativamente ($p<0.05$ e $F>F_{\text{crítico}}$) de forma linear positiva, no resultado de antioxidantes. No gráfico 3B, pode-se notar a faixa

ótima de extração através da cor vermelho escuro, entre as faixas de pH 6 em diante e 70% a 90% para os valores de amplitude, possivelmente devido a maior intensidade das cavitações causadas pelo ultrassom, facilitando a extração de antioxidantes pelo solvente. O modelo foi preditivo ($R^2=90\%$) e falta de ajuste com ($p<0,05$).

Sabe-se que sob a influência de vibrações ultrassônicas há uma destruição rápida e ativa de materiais intracelulares de tecidos vegetais, o que leva a uma intensificação do processo de extração e ao aumento no conteúdo de compostos biologicamente ativos em solução. O tratamento com maior porcentagem de amplitude do equipamento de ultrassom levou a uma maior atividade antioxidante, em comparação a centrifugação (GORBUNOVA et al., 2018), corroborando com os resultados obtidos no presente estudo, pois T7 foi extraído com 89% de amplitude, valor considerado alto, resultando no aumento da extração de compostos com atividade antioxidante.

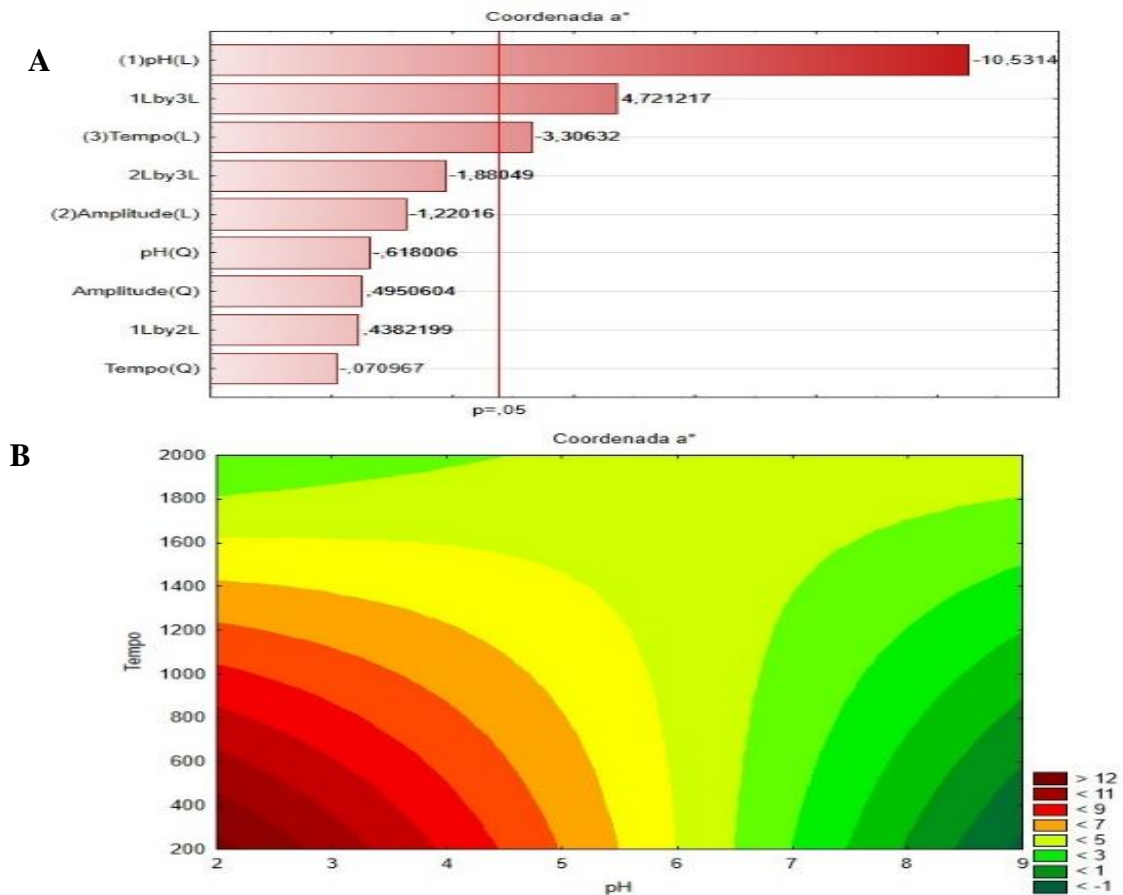
Outro resultado semelhante ao do tratamento 7 do presente estudo para atividade antioxidante através de análise de ABTS^{•+} foi o de Calvo, Perullini e Santagapita (2018), que obtiveram valor de $113\pm 8,0 \mu\text{gTeac/g}$ do extrato da folha de beterraba obtido por extração aquosa, concluindo que as folhas possuem maior atividade antioxidante do que os caules. Já em partes comestíveis de vegetais como cenoura, couve folha e repolho, a atividade antioxidante foi respectivamente de 109; 306 e $249\mu\text{gTeac/g}$, com os dois últimos apresentando valores superiores a T7 ($100,22 \pm 0,41\mu\text{gTea/g}$), evidenciando que, a capacidade antioxidante varia conforme a matriz vegetal e possivelmente também, devido ao fato de que na polpa dos vegetais se concentra maior quantidade de massa em relação as cascas (MELO; FARIAS, 2014).

Ainda em relação ao mesmo estudo, as partes convencionalmente não comestíveis (casca, raízes, folhas, talos) de vegetais como brócolis, beterraba, couve, cenoura, repolho e rabanete, no brócolis e na beterraba a atividade antioxidante apresentou-se superior aos demais vegetais e inferior a atividade antioxidante encontrada no tratamento 7, o que mostra que o método de EAU para extração de bioativos da casca da beterraba pode ter alto potencial para obtenção de compostos com atividade antioxidante.

5.1.4 Colorimetria

Dentre as coordenadas L^* , a^* , b^* e h da análise de colorimetria, os valores da coordenada a^* que variam do vermelho ao verde, foram analisados por meio dos gráficos de superfície de resposta e do diagrama de Pareto, conforme mostra o gráfico 4.

Gráfico 4 Diagrama de Pareto e gráfico de superfície de resposta do tempo de extração x pH para o resultado da coordenada a^* de cor.



A: Diagrama de Pareto, **B:** Gráfico de superfície de Resposta de tempo (s) x pH.

De acordo com o gráfico 4A, podemos observar que as variáveis independentes pH ($p=0,00046$) e tempo ($p=0,02976$) influenciaram significativamente ($p < 0,05$) de forma linear negativa no valor obtido pela coordenada a^* , ou seja, quanto maior o valor de pH e tempo, menor o valor de a^* . No gráfico 4B, pode-se notar a faixa ótima de extração na cor vermelho escuro, entre as faixas de pH 3-4 e tempo até 600 segundos. Dessa forma, de acordo com a tabela 3, pode-se concluir que o tratamento 3 obteve maior valor da coordenada a^* possivelmente influenciado pela combinação do seu pH e tempo de extração. O modelo linear

quadrático com efeitos de 2º ordem foi preditivo, evidenciado pelo $R^2 = 93\%$ e falta de ajuste com ($p < 0,05$).

As betalaínas apresentam estabilidade em uma ampla faixa de pH 4-7, enquanto as betacianinas, compostos derivados das betalaínas responsáveis pela coloração vermelha são mais estáveis na faixa de pH 4-5 (RODRIGUEZ-AMAYA, 2019), corroborando com os resultados encontrados para o tratamento 3 em relação ao parâmetro a^* , que apresentou maiores valores quando a extração ocorreu em meio com faixa de pH abaixo de 4, indicando maior incidência da coloração vermelha no tratamento. Os valores de a^* e das demais coordenadas foram analisadas e expressas na tabela 4.

Tabela 4 Análise de cor dos tratamentos com suas variáveis independentes.

<i>Tratamentos</i>	<i>Amplitude (%)</i>	<i>pH</i>	<i>Tempo (s)</i>	<i>L*</i>	<i>a*</i>	<i>b*</i>	<i>H</i>
<i>T1</i>	60,1	4,0	603,6	2,88±0,04	5,32±0,22	2,76±0,11	17,54±0,73
<i>T2</i>	60,1	4,0	1496,4	2,67±0,03	7,03±0,06	3,19±0,09	19±0,6
<i>T3</i>	89,9	4,0	603,6	1,85±0,05	9,27±0,09	1,67±0,07	13,45±0,62
<i>T4</i>	89,9	4,0	1496,4	2,45±0,05	5,79±0,16	3,32±0,11	29,86±1,44
<i>T5</i>	60,1	7,0	603,6	1,57±0,03	4,06±0,05	0,95±0,04	13,19±0,41
<i>T6</i>	60,1	7,0	1496,4	2,34±0,04	5,07±0,13	0,79±0,19	8,87±2,3
<i>T7</i>	89,9	7,0	603,6	1,95±0,26	4,4±0,13	0,75±0,05	9,67±0,93
<i>T8</i>	89,9	7,0	1496,4	2,07±0,12	4,62±0,09	0,46±0,22	6,78±1,58
<i>T9</i>	75,0	3,0	1050,0	2,3±0,07	5,44±0,12	2,14±0,23	21,43±2,54
<i>T10</i>	75,0	8,0	1050,0	0,93±0,05	1,86±0,05	0,04±0,02	2,01±0,63
<i>T11</i>	50,0	5,5	1050,0	1,54±0,05	4,46±0,09	0,89±0,07	11,32±1,05
<i>T12</i>	100,0	5,5	1050,0	1,42±0,17	3,66±0,18	0,4±0,11	6,28±2,02
<i>T13</i>	75,0	5,5	300,0	1,79±0,1	4,42±0,05	0,81±0,16	10,37±2,05
<i>T14</i>	75,0	5,5	1800,0	1,68±0,22	3,29±0,24	0,39±0,18	7,87±1,11
<i>T15</i>	75,0	5,5	1050,0	2,01±0,02	5,59±0,06	1,17±0,05	11,89±0,44
<i>T16</i>	75,0	5,5	1050,0	2,13±0,1	4,94±0,11	1±0,04	11,46±0,74
<i>T17</i>	75,0	5,5	1050,0	2,11±0,39	5,43±0,12	1,06±0,24	10,99±2,26
<i>T18</i>	75,0	5,5	1050,0	2,66±0,17	5,85±0,11	1±0,16	9,68±1,39
<i>T19</i>	75,0	5,5	1050,0	1,92±0,02	4,68±0,02	0,77±0,02	9,31±0,23

Os valores da coordenada L^* variaram de 0,93±0,05 a 2,88±0,04, valores positivos, porém próximos de 0, sinalizando que a luminosidade das soluções foi baixa para todos os tratamentos, possivelmente por conta do extrato que estava concentrado, não sobressaindo a transparência da água, que apresenta alta luminosidade (TONON; BRABET; HUBINGER, 2009).

Já a coordenada a^* manteve, na maioria dos tratamentos, valores positivos em torno de 4 e 5, com exceção do tratamento 3 que obteve valor de 9,27±0,09, aparentemente acima dos demais, sinalizando a predominância da cor vermelha nos tratamentos. Corroborando com

os resultados visuais, onde a maioria dos extratos aquosos apresentaram coloração semelhante à da beterraba, em tons de vermelho vinho, exemplificado na figura 9, possivelmente por conta do alto teor de betaninas, composto derivado das betalaínas responsável pela coloração vermelha, presente no bulbo da beterrabas (*Beta vulgaris* L.).

Figura 9 Tratamento 3 do extrato aquoso de betalaínas.



Fonte: o autor.

Em relação ao parâmetro b^* que varia do amarelo ao azul, os valores se mantiveram positivos, favorecendo a predominância de tonalidade avermelhada, com exceção dos tratamentos 2 e 4 que apresentaram coloração com tons mais alaranjados, quando visualizados a olho nu, confirmados aparentemente pelos maiores valores da coordenada b^* ($3,19 \pm 0,09$ e $3,32 \pm 0,11$, respectivamente). Isso pode ser possivelmente explicado pelo fato de que durante o processo de sonicação, esses dois tratamentos alcançaram as maiores temperaturas por conta do descongelamento do banho de gelo e pelo alto tempo de extração.

O ângulo hue° (H), mostra as tonalidades em que os tratamentos se encontram, onde de 0 a 90° , as amostras então dentro do quadrante de tons avermelhados e todos os tratamentos apresentaram valores que correspondem as coordenadas referente a tonalidade vermelha.

Dessa forma, através de todas as coordenadas estudadas e a análise visual, podemos inferir que o método de extração assistida por ultrassom, associado as variáveis independentes (amplitude, tempo e pH) foram eficazes para extração do pigmento com coloração vermelha predominante.

5.1.5 Correlação de Pearson (r)

As variáveis dependentes betalaínas, polifenóis e atividade antioxidante obtiveram coeficientes de correlação acima do valor mínimo de 0,5, para que se tenha um nível de correlação que possa ser considerado, sendo confirmados pelos valores de $p < 0,05$, que demonstra correlação significativa.

Tabela 5 Correlação de Pearson entre variáveis dependentes.

	Betalaínas totais	Polifenóis totais	Atividade antioxidante
<i>Betalaínas totais</i>	0	$p=2,65^{-10}$	$p=0,00072$
<i>Polifenóis totais</i>	0,95	0	$p=0,00033$
<i>Atividade antioxidante</i>	0,71	0,73	0

Através dos dados da tabela, pode-se concluir que as variáveis dependentes betalaínas, polifenóis e atividade antioxidante obtiveram coeficientes de correlação acima do valor mínimo de 0,5 para que se tenha um nível de correlação que possa ser considerado, sendo confirmados pelos valores de $p < 0,05$, que mostra que a correlação foi significativa. Todos os coeficiente apresentaram valores positivos, o que significa que as variáveis se correlacionaram de forma linear positiva.

O coeficiente de Pearson entre betalaínas e polifenóis apresentou alta correlação entre essas variáveis, ou seja, quanto maior a quantidade de betalaínas totais no extrato, maior foram o valores encontrados para quantidade de polifenóis totais. Resultado semelhante ao encontrado por Antigo, Bergamasco e Madrona (2018), que obtiveram $r=0,9$ para correlação entre betanina e quantidade de compostos fenólicos. Esta correlação foi positiva, uma vez que a betanina é o principal composto fenólico encontrado em beterraba vermelha.

Já a atividade antioxidante obteve valores positivos $r=0,71$ na correlação com betalaínas e 0,73 com polifenóis totais, corroborando com as propriedades dos polifenóis e das betalaínas, formadas por compostos com alta atividade antioxidante (CLIFFORD et al., 2015 e KATHIRAVAN; NADANASABAPATHI; KUMAR, 2014).

5.2 Etapa 2 – Encapsulamento de corante natural por gelificação iônica

Nesta etapa, foram selecionados quatro tratamentos, dos 19 gerados pelo delineamento de composto central rotacional (DCCR) os quais obtiveram maior quantidade de betalaínas totais, de polifenóis totais, maior atividade antioxidante e resultados de melhor coloração vermelha (parâmetro a^*), de acordo com os resultados apresentados nos gráficos de superfície de resposta (GSR) obtidos na etapa 1 deste trabalho. Os tratamentos escolhidos foram o T3, T7, T8 e T10, os quais foram submetidos ao processo de microencapsulamento com alginato de sódio como material de parede, gluconolactato de cálcio como agente reticulante e em seguida foram liofilizadas.

Os parâmetros utilizados no encapsulador, bem como quantidade de alginato e sal de cálcio foram previamente estudados e escolhidos de forma criteriosa para se obter o tamanho e consistência desejadas das micropartículas.

Já como processo de secagem, segundo Anwar e Kunz (2011), a liofilização é a técnica mais adequada para a desidratação de quase todas as substâncias sensíveis ao calor, tais como óleos naturais, corantes, aromas, drogas, bem como componentes solúveis em água, devido a baixas temperaturas de operação com a ausência de ar, resultando em produtos de qualidade prolongada e superior, evitando deteriorações causadas por oxidação ou modificação química.

5.2.1 Análise de imagem

As cápsulas liofilizadas foram analisadas em microscópio óptico com câmera digital acoplada, apresentando valores médios de tamanho de partícula e forma com seus respectivos desvios padrão conforme mostra a tabela 6.

Tabela 6 Tamanho e forma das microesferas.

Tratamentos	Tamanho (μm)	Formato circular
T3	$771,7 \pm 165,3^{6a}$	$0,51 \pm 0,15^a$
T7	$773,56 \pm 130,43^a$	$0,58 \pm 0,16^a$
T8	$844,83 \pm 180,9^b$	$0,38 \pm 0,07^b$
T10	$697,56 \pm 154,18^c$	$0,57 \pm 0,12^a$

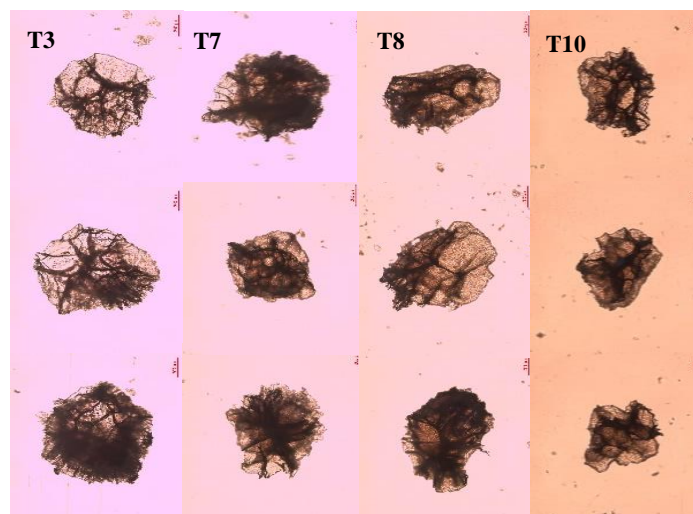
Valores com letras iguais na mesma coluna não diferem significativamente, valores com letras diferentes na mesma coluna diferem entre si ($p < 0,05$).

A diferença entre encapsulação, microencapsulação e nanoencapsulação está no tamanho da partícula. Micropartículas são formadas com um tamanho entre 1 e 1000 μm (MARTINS et al., 2014). Dessa forma, os valores médios obtidos para o tamanho das partículas dos 4 tratamentos encapsulados, que todos podem ser considerados como microesferas ou micropartículas, uma vez que, variaram de $697,56 \pm 154,18$ a $844,83 \pm 180,9$ μm (tabela 6).

Estatisticamente ($p < 0,05$), podemos concluir que o tratamento 8 obteve o maior tamanho de partículas, enquanto T10 obteve menor tamanho de partícula, ambas diferindo dos demais. T3 e T7 não apresentaram diferença significativa. Embora todos os tratamentos tenham passado pelos mesmo processo de microencapsulamento, o processo de liofilização gerou micropartículas de tamanho e forma sem uniformidade, devido o processo de retirada da água durante a sacagem intensificado pelo caráterisca do alginato de sódio, que, quando reticulado apresenta alta porosidade (BALDWIN; HAGENMAIER; BAI, 2011). Problemas relacionados com a falta de controle sobre o tamanho das partículas podem ser encontrados, devido à sublimação do gelo durante o processo (ANANDHARAMAKRISHNAN; RIELLY; STAPLEY, 2010).

Esse fator pode ter afetado no alto desvio padrão encontrado para os tamanhos das micropartículas e no seu formato circular, mostrados na tabela 6, uma vez que, se obteve cápsulas com o formato de esferas, como também houveram várias cápsulas com formato menos circulares, evidenciados na figura 10.

Figura 10 Imagem microscópica dos corantes encapsulados



Fonte: o autor

A forma circular, ou circularidade das partículas é definida como um valor entre 0 e 1, indicando a semelhança da forma da partícula em relação a um círculo ou esfera, quanto mais próximo de 1, mais esférica é a partícula (CALVO; SANTAGAPITA, 2016). Por conta do processo de secagem, houve uma despadronização na circularidade ‘das esferas, mostrado na figura 11, com algumas partículas com valores mais próximos de 1 e outras menos circulares, com valores de até 0,3. Como os valores foram obtidos através da média dos valores de circularidade de várias cápsulas escolhidas aleatoriamente, os valores ficaram entre $0,38 \pm 0,07$ a $0,58 \pm 0,16$, sendo T8 o tratamento com menor valor de média para circularidade das partículas, diferindo dos demais tratamentos ($p < 0,05$).

Figura 11 Micropartículas de alginato antes da secagem (A) e após o processo de secagem (B).



Fonte: o autor

Calvo, Santagapita e Perullini (2019) em seu estudo sobre tamanho do bico de extrusão nas propriedades estruturais das cápsulas de alginato, obtiveram partículas em torno de 1500 a 3500 μm , valores duas até vezes maiores do que os encontrados no presente estudo, sendo facilmente compreendidos pelo fato de que as cápsulas não passaram pelo processo de secagem, contendo maior volume de água, conseqüentemente, maior tamanho e maior padronização do seu formato circular (valores de circularidade em torno de 0,9), ou seja, partículas com forma mais circulares como o de esferas bem definidas.

5.2.2 Umidade Relativa (UR)

Os resultados obtidos na análise de umidade foram apresentados na tabela 7, com suas médias, desvio padrão, análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey ao nível de 95% de confiança ($p < 0,05$).

Tabela 7 Valores de umidade relativa (UR) e atividade de água (Aw).

Tratamentos	UR (%)	Aw (%)
T3	9,21 ± 0,25 ^a	0,57 ± 0,02 ^a
T7	11,01 ± 0,11 ^b	0,54 ± 0,00 ^a
T8	8,11 ± 0,10 ^c	0,54 ± 0,06 ^a
T10	8,94 ± 0,08 ^a	0,51 ± 0,01 ^a

Valores com letras iguais na mesma coluna não diferem significativamente, valores com letras diferentes na mesma coluna diferem entre si ($p < 0,05$).

A umidade relativa das micropartículas variou de $8,11 \pm 0,10$ a $11,01 \pm 0,11$, com o tratamento T10 diferindo significativamente de T7 e T8, e não tendo diferença significativa de T3, enquanto que os demais tratamentos diferiram entre si ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$). Isso mostra que as variáveis (pH, amplitude e tempo) do processo de extração assistida por ultrassom (EAU) interferiram nos valores de umidade das micropartículas, uma vez que, todas as demais variáveis do processo de microencapsulamento foram as mesmas para todos os tratamentos.

Silva et al. (2013), obtiveram resultados que se aproximaram dos resultados deste estudo, com valores acima de 5,3% ao secar extratos das cascas de jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) encapsulados por maltodextrina como agente carreador. Já Otálora et al. (2018) em seu estudo sobre encapsulamento de betaxantinas de palma (*Opuntia megacantha*), obtiveram valores de umidade das micropartículas de $1,18 \pm 0,02$ para secagem em spray dry e $2,86 \pm 0,01$ para secagem em estufa de circulação de ar. As micropartículas foram obtidas pelo método de gelificação iônica com alginato, obtendo valores relativamente mais baixos que os desse estudo, possivelmente devido as temperaturas mais elevadas usadas no processo de secagem. Segundo Laokuldilok e Kanha (2015) quanto maior a temperatura de secagem, maior a força motriz na evaporação da água, resultando em um material encapsulado com menor teor de umidade e atividade de água. Além disso, o processo de liofilização é um processo simples, realizado a baixas temperaturas de operação, possibilitando assim uma maior presença de umidade após o processo de secagem (ANWAR; KUNZ, 2011).

Outro fator que pode ter influenciado no teor de umidade das micropartículas é a alta higroscopicidade – capacidade do material em absorver a umidade do meio – inerente as partículas obtidas, isso devido a matriz de alginato ser muito higroscópica, um fator crítico que afeta a estabilidade durante o armazenamento do grânulo (OTÁLORA et al., 2016).

O estudo da quantidade de água presente nas cápsulas é de grande importância, pois diversos trabalhos relatam que o aumento na umidade relativa de armazenamento levam ao aumento nas constantes da taxa de reação de degradação (MAHFOUDHI; HAMDI 2014, OTÁLORA et al., 2015 e RAMONEDA et al., 2011). Embora se saiba que a água age como um meio para reações químicas e biológicas, o conteúdo de água no material da parede por si só não é um indicador da atividade biológica.

5.2.3 Atividade de água (A_w)

Uma indicação mais precisa é a atividade da água, responsável pela água “livre” no material de parede. Valores baixos de A_w são encontrados em atmosferas secas onde a água é fortemente atraída para os sítios polares dos constituintes da parede e não está disponível para nenhum tipo de reação (PITALUA; JIMENEZ; BERISTAIN, 2010).

De acordo com a tabela 7, os valores para atividade de água nas microesferas não apresentaram diferença significativa entre si ($p < 0,05$), mostrando que as variáveis (pH, amplitude e tempo) do processo de extração (EAU) não interferiram nos valores de A_w das microesferas. Os valores de A_w da microesferas foram inferiores a $0,57 \pm 0,02$, medidas a temperatura de 35°C , valor abaixo de 0,63, o que permite considerar estes sólidos como bioquimicamente e microbiologicamente estáveis (OTÁLORA et al., 2016).

Os resultados encontrados nesse estudo, foram semelhantes aos encontrados por Otálora et al. (2018), que obteve valores de $0,51 \pm 0,02$ de atividade de água utilizando método de gelificação inônica com alginato como material de parede. Já Zardo (2014), obteve valores de atividade de água abaixo de 0,1 para microesferas com mistura de diferentes proporções de goma arábica e maltodextrina pelo método de pulverização com temperaturas acima de 150°C . Dessa forma podemos evidenciar a influência da temperatura e do material de parede na secagem do material e conseqüentemente na A_w das microesferas (LAOKULDILOK; KANHA, 2015).

5.2.4 Quantificação de betalaínas totais

Após o processo de microencapsulamento por gelificação iônica, foi avaliado a quantidade de betalaínas em base seca, com o pigmento encapsulado na matriz de alginato após serem submetidos a processo de secagem por liofilização. A tabela 8 mostra quantificação de

betalaínas no extrato e os resultados para a taxa de retenção do composto nas esferas, todos com valores de desvio padrão e análise de variância e teste de Tukey.

Tabela 8 Quantidade de betalaínas totais do extrato, das micropartículas e taxa de retenção.

TRATAMENTOS	BETALAÍNAS (mg/100g) EXTRATO	BETALAÍNAS (mg/100g) MICROPARTÍCULAS	TAXA DE RETENÇÃO (%)
T3	392,34 ± 7,01 ^a	293,88 ± 6,76 ^a	74,94 ± 3,01 ^a
T7	379,86 ± 13,4 ^a	257,86 ± 11,16 ^b	67,88 ± 1,21 ^b
T8	420,64 ± 0,65 ^b	387,41 ± 8,18 ^c	92,1 ± 1,81 ^c
T10	451,19 ± 2,35 ^c	409,35 ± 3,53 ^c	90,73 ± 1,19 ^c

Valores com letras diferentes na mesma coluna, apresentam diferença significativa ($p < 0,05$).

De acordo com os resultados obtidos para as micropartículas apresentados na tabela, pode-se concluir que os tratamentos 3 e 7 diferiram significativamente ($p < 0,05$) das demais amostras, enquanto que o tratamento 10 apresentou maior valor ($409,35 \pm 3,53$ mg/100g), não diferindo significativamente do tratamento 8 ($387,41 \pm 8,18$ mg/100g). Semelhantemente ao que ocorreu com a quantidade de betalaínas presente no extrato antes do processo de microencapsulação, onde T10 obteve maiores valores e T7 com menor valor. Dessa forma podemos ver que as variáveis independentes do processo de extração, interferiram na quantificação de betalaínas dos tratamentos de forma significativa.

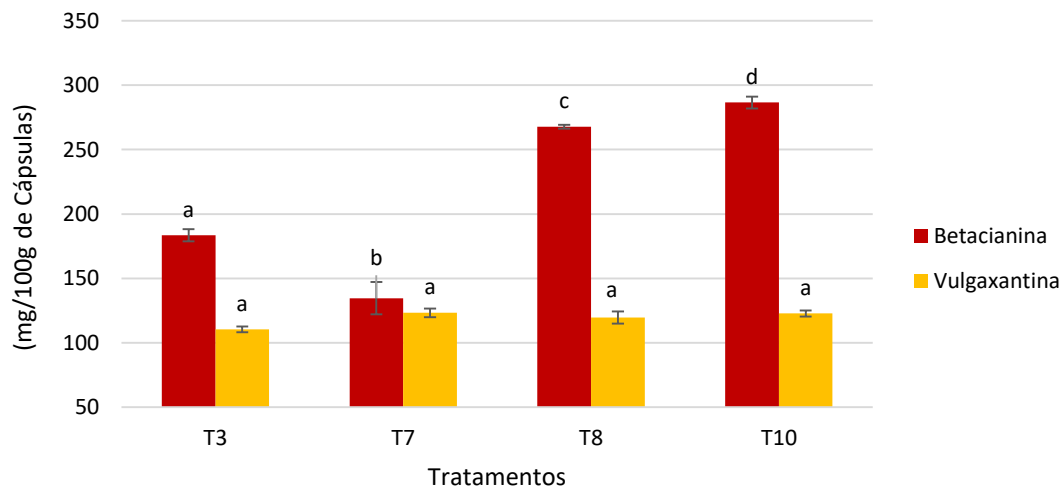
No tratamento 10, o pigmento foi extraído em meio com pH 8, o maior valor de pH para os tratamentos descritos pelo delineamento decomposto central (DCC), mostrando que a combinação de amplitude (75), pH e tempo de extração (1050 segundos), extraiu as maiores quantidades de betalaína, se mantendo após o processo de microencapsulamento. Isso pode ser entendido devido ao uso da amplitude intermediária em relação as demais utilizadas, que pode ter sido menos nociva ao pigmento e associado a tempo de aproximadamente 15 minutos, que fizeram com que a temperatura não se elevasse (LAQUI-VILCA et al., 2018). O pH relatado na seção 5.1.1, na faixa de estabilidade das betalaínas, possivelmente conservando o pigmento após o processo de microencapsulamento.

Outros autores quantificaram betalaínas microencapsuladas em diferentes matrizes, fontes e através dos resultados obtidos, pode-se inferir que os resultados obtidos neste estudo foram satisfatórios. Delia et al. (2019) encontraram valores entre 77-392 mg de betalaína/100g de encapsulado em seu estudo de microencapsulamento de extratos de *Escontria chiotilla* e

Stenocereus queretaroensis por spray drying, valores semelhantes aos encontrados no tratamento 8 e 10. Carmo et al., (2018), também apresentaram valores em torno de 390mg de betalaína/100g de encapsulados com oligossacarídeos e proteínas do soro do leite. Já Laqui-Vilca et al. (2018) apresentaram valor máximo de 218.2 ± 12.3 mg de betalaína/100g, assim como Gorbunova et al. (2018) que obtiveram valor semelhante ao tratamento 7, em torno de 200 mg/100g de cápsulas de alginato contendo betalaínas extraídas das folhas da beterraba extraídas por ultrassom. Desse valor, $90,5 \pm 7$ mg/100g foi de betacianinas, responsável pela coloração avermelhada, e $127,6 \pm 9$ mg/100g foi de betaxantinas, responsável pela coloração amarela.

No presente estudo, ao contrário dos resultados de Gorbunova et al. (2018), a quantidade de betanina (coloração vermelha) foi superior aos valores de vulgaxantina (coloração amarela), conforme mostra o gráfico 5. T10 obteve maior quantidade de betanina ($286,59 \pm 4,54$ mg/100g), diferenciando significativamente dos demais tratamentos, enquanto o valor de vulgaxantinas ficou em torno de 120mg/100g, não diferindo significativamente ($p < 0,05$) das demais amostras. Mostrando que o processo de extração assistida por ultrassom favoreceu a extração das betaninas.

Gráfico 5 Quantidade de betaninas e vulgaxantinas das micropartículas.



Valores com letras iguais nas colunas de mesma cor não diferem significativamente, valores com letras diferentes nas colunas de mesma cor diferem entre si ($p < 0,05$). Pó: pó das cascas liofilizados da beterraba, T3: tratamento extraído com amplitude de 89,9%, pH 4 e tempo de 603,6 segundos; T7: tratamento extraído com amplitude de 89,9%, pH 7 e tempo de 603,6 segundos; T8: tratamento extraído com amplitude de 89,9%, pH 4 e tempo de 1496,4 segundos; T10: tratamento extraído com amplitude de 75%, pH 8 e tempo de 1050 segundos

5.2.4.1 Taxa de retenção de betalaínas (TRB%)

Através da tabela 8, pode-se observar a taxa de retenção, que foi calculada para se avaliar o processo de eficiência do microencapsulamento quanto a retenção de betalaínas nas cápsulas de alginato de sódio. A porcentagem de retenção se manteve entre $67,88 \pm 1,21$ - $92,1 \pm 1,81$, tendo os tratamentos 8 e 10 com as maiores taxas de retenção, diferindo ($p < 0,05$) dos demais tratamentos e T7 com a menor taxa de retenção.

A retenção de compostos bioativos em processos de microencapsulamento estão relacionados principalmente, ao processo de secagem das partículas e ao material de parede utilizado. Em pesquisa realizada com microencapsulamento de betalaína com mucilagem de cactos como material de parede e utilizando spray drying como método de secagem, foram obtidos taxas de retenção do pigmento de até 98%, valor superior aos obtidos nos tratamentos desse estudo, embora T8 e T10 tenham alcançado valores em torno de 90%.

Na liofilização, a água é removida de uma solução aquosa via sublimação deixando o produto desidratado. Durante o processo de sublimação, o produto seco torna-se poroso, devido os caminhos percorridos pelo vapor d'água através das cápsulas (LABUSCHAGNE, 2018). Dessa forma, essa porosidade pode vir a ser uma “porta de entrada” de agentes externos causadores da degradação das betalaínas, interferindo na retenção do pigmento nas cápsulas. Outro possível fator que pode contribuir com uma menor retenção é a propriedade de higroscopicidade das microesferas

Carmo et al. (2018) usando proteína do soro do leite adicionado a maltodextrina como agente carreador, obteve valores de até 60% de taxa de retenção, valor abaixo da menor taxa ($67,88 \pm 1,21\%$) obtida nos tratamentos aqui estudados. Dessa forma, vários outros fatores relacionados as características intrínsecas do material podem influenciar na retenção do pigmento.

Mesmo com taxas de retenção em torno de 60%, o método de encapsulamento de corantes ainda é uma alternativa para prolongar a estabilidade de betalaínas, devido sua alta sensibilidade a fatores externos (LABUSCHAGNE, 2018).

5.2.5 Quantificação dos polifenóis totais

Compostos fenólicos são uma grande classe de metabólitos subordinados de plantas e significativos para a qualidade de alimentos à base de plantas. Beterraba tem alta quantidade de compostos fenólicos e flavonóides. O conteúdo total de ácidos fenólicos em beterraba foi relatado como sendo 50-60 μ mol/g de peso seco (KATHIRAVAN; NADANASABAPATHI; KUMAR, 2014). Além disso, a sua casca de tem a segunda maior concentração de peso seco de fenóis totais (CHHIKARA et al., 2019). Dessa forma, pode-se inferir que o co-produto da beterraba é uma fonte riquíssima de compostos fenólicos, conforme mostra a tabela 9

Tabela 9 Quantidade de polifenóis do extrato, das micropartículas e taxa de retenção.

TRATAMENTOS	POLIFENÓIS (mg GAE*/100g) EXTRATO	POLIFENÓIS (mg GAE*/100g) MICROPARTÍCULAS	TAXA DE RETENÇÃO (%)
T3	565,21 \pm 2,01 ^a	284,49 \pm 8,62 ^a	50,33 \pm 1,36 ^a
T7	662,67 \pm 3,46 ^b	337,69 \pm 19,43 ^b	50,95 \pm 2,73 ^a
T8	689,95 \pm 3,049 ^c	475,2 \pm 11,75 ^c	68,87 \pm 1,4 ^b
T10	671,86 \pm 2,31 ^d	361,89 \pm 20,45 ^b	53,86 \pm 3,03 ^a

Valores com letras diferentes na mesma coluna, apresentam diferença significativa ($p < 0,05$).

*GAE: equivalentes de ácido gálico

A quantidade de polifenóis obtidos nos extratos do co-produto da beterraba dos tratamentos 3, 7, 8 e 10 diferiram significativamente entre si ($p < 0,05$), evidenciando a influência das variáveis independentes durante o processo de extração assistida por ultrassom. T8 apresentou maior valor na quantidade de compostos fenólico e T3 com o menor valor, facilmente entendido, pela influencia do pH 4 utilizado com menor tempo de extração do delineamento, conforme foi discutido no tópico 5.1.2.

Após o processo de microencapsulamento com alginato, pode-se observar que T8 continuou sendo o tratamento com maior quantidade de polifenóis, diferindo estatisticamente ($p < 0,05$) dos demais tratamentos, enquanto T3 apresentou menor valor, e T7 e T10 apresentaram valores intermediários não diferindo entre si.

O resultado da quantidade de polifenóis obtido para T8 (475,2 \pm 11,75mg GAE/100g) após encapsulamento foi semelhante ao encontrado por Antigo, Bergamasco e Madrona (2018) que encontraram o valor de 403,11 mgGAE/100g de beterraba pro tratamento encapsulado com maltodextrina como material de parede, em pH 6 através de secagem por

liofilização e valor de 571,91 mgGAE/100g sob as mesmas condições, para a secagem por spray drying, evidenciando a hipótese relatada no por Labuschagne (2018), com relação produção de poros no encapsulado durante o processo de liofilização, que pode facilitar a ação de agentes externos na degradação dos compostos fenólicos, assim como nas betalaínas. Diante disso, foi analisada a taxa de retenção dos compostos após encapsulamento do pigmento.

5.2.5.1 Taxa de retenção de polifenóis (TRP%)

A quantidade de polifenóis nos tratamento 3, 7 e 10 após o processo de microencapsulamento em relação ao extrato, foram reduzidos em torno de 50% não diferindo significativamente entre si ($p < 0,05$), enquanto que em T8, a porcentagem de retenção de compostos fenólicos foi de 68%, diferindo dos demais tratamentos. Valores de retenção de polifenóis semelhantes foram encontrados por Calvo, Santagapita e Perullini (2019) microencapsulando extratos de caules de beterraba com alginato como material de parede.

Essa redução na quantidade de polifenóis pode ser atribuída ao fato de que, durante o processo de extração, as soluções estavam protegidas contra fatores externos como a luz e umidade, que funcionam como agentes de degradação tanto em betalaínas como em polifenóis, durante o processo de encapsulamento foram expostas a temperatura ambiente, luz, oxigênio, umidade, tornando-se mais suscetíveis a processos degradativos.

Mesmos com taxas de retenção de polifenóis com porcentagens entre $50,33 \pm 1,36$ e $68,87 \pm 1,4$, os valores de compostos fenólicos obtidos após o processo de microencapsulamento foram superiores aos encontrados em estudos sob diferentes condições de encapsulamento e matrizes obtidos na literatura (KHATAB et al., 2016, CALVO; PERULLINI; SANTAGAPITA, 2018, LAQUI-VILCA et al., 2018, RORIZ et al., 2018).

5.2.6 Atividade antioxidante

Os resultados de atividades antioxidantes obtidos pelo método de sequestro de radicais livres (ABTS^{*+}) para o extrato das cascas da beterraba, antes e após o processo de encapsulamento com alginato por gelificação iônica, juntamente com as porcentagens de taxa de retenção foram expressados na tabela 10.

Tabela 10 Atividade antioxidante do extrato, das micropartículas e taxa de retenção.

TRATAMENTOS	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE ($\mu\text{gTEAC}^*/100\text{g}$) EXTRATO	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE ($\mu\text{gTEAC}^*/100\text{g}$) MICROPARTÍCULAS	TAXA DE RETENÇÃO (%)
T3	$37,3 \pm 0,56^a$	$30,72 \pm 0,95^a$	$82,38 \pm 2,79^a$
T7	$100,29 \pm 0,41^b$	$89,93 \pm 1,41^b$	$89,74 \pm 1,78^a$
T8	$73,30 \pm 0,56^c$	$61,86 \pm 2,64^c$	$84,38 \pm 3,43^a$
T10	$71,387 \pm 1,15^d$	$60,62 \pm 2,88^c$	$84,92 \pm 3,99^a$

Valores com letras diferentes na mesma coluna, apresentam diferença significativa ($p < 0,05$).

*TEAC: equivalente de trollox

Pode-se concluir através da tabela 10 que houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre os quatro tratamentos, com T3 obtendo menor atividade antioxidante e T7 apresentando maior valor para atividade antioxidante nos extratos da casca de beterraba. Isso mostra que as variáveis independentes amplitude, tempo e pH influenciaram na atividade antioxidante dos tratamentos. T7 obteve maior valor extraído com amplitude de 89%, pH 7 – relatado na literatura como faixa de estabilidade dos pigmentos derivados das betalaínas – e tempo de 10 minutos, relativamente baixo em relação aos demais tempos propostos no delineamento experimental, fatores que certamente influenciaram para maior obtenção da atividade antioxidante.

Após a etapa de extração, os tratamentos foram armazenados, a fim de, reduzir ao máximo a perda da atividade antioxidante até o processo de encapsulamento e secagem do pigmento, onde o material de parede agiria como proteção para os compostos com atividade antioxidante. Após a etapa de encapsulamento, T7 continuou sendo o tratamento com maior atividade antioxidante ($89,93 \pm 1,41$), diferindo estatisticamente dos demais ($p < 0,05$), assim como T3 continuou apresentando menor atividade ($30,72 \pm 0,95$). Mesmo T3 sendo o tratamento com menor atividade, apresentou maior atividade antioxidante que os valores obtidos por Sardella (2016) microencapsulando extrato de beterraba por spray drying, enquanto a atividade antioxidante obtida para o extrato *in natura* foi significativamente maior. Esse fato pode ser explicado, levando em consideração que no processo de atomização, as amostras são expostas a altas temperaturas, apesar de ser por um curto intervalo de tempo, interferindo na degradação dos compostos com capacidade antioxidante.

Moser et al. (2017) avaliaram a estabilidade de antioxidantes em suco de uva BRS violeta, microencapsulados com misturas de maltodextrina e proteínas, durante o armazenamento, relatando atividades antioxidantes de 27,83; 33,06; 21,94 e 24,60 μg

TEAC/100 g, valores abaixo dos encontrados no referente estudo. Isso mostra que tanto a matriz escolhida, como o método de extração e encapsulamento apresentaram resultados que atribuíram grande potencial de atividade antioxidante as microesferas de alginato contendo pigmento extraído das cascas da beterraba por meio de ultrassom.

5.2.6.1 Taxa de retenção de atividade antioxidante (TRA%)

De acordo com a tabela 10, podemos observar que não houve diferença significativa na taxa de retenção da atividade antioxidante nos tratamentos após processo de microencapsulação, mantendo-se médias em torno de 89% de retenção, mostrando que o processo de encapsulação com alginato como material de parede, preservou a atividade antioxidante dos compostos bioativos.

Para o TRA%, com exceção das cápsulas que tiveram extrato de caule de beterraba no sistema de sacarose, que apresentou 70% de atividade, a TRA% ficou entre 20 e 40% para todos os sistemas (CALVO; PERULLINI; SANTAGAPITA, 2018). Valores bem muito abaixo dos encontrados nos tratamentos T3 e T7. Semelhantemente, o estudo de Calvo, Santagapita e Perullini (2019), que utilizou vários polissacarídeos em combinação com alginato como material de parede, obtendo porcentagens abaixo de 67% de retenção da atividade antioxidante. A adição desses polissacarídeos pode ter alterado a matriz de alginato. Segundo os autores essas alterações podem estar relacionadas à presença de grupos adicionais de poligalacturonato que podem interagir diretamente com polifenóis e betalaínas, bem como promover modificações nas associações de Ca^{2+} -alginato.

5.2.7 Colorimetria

As microesferas foram dissolvidas em água na proporção de 1:100 (m/v) e em seguida foram analisadas em um colorímetro para avaliar a coloração do corante liberado inicialmente em solução aquosa. Os resultados foram expressos na tabela 11.

Tabela 11 Análise colorimétrica das micropartículas.

<i>Tratamento</i>	<i>Coordenadas</i>			
	<i>L*</i>	<i>a*</i>	<i>b*</i>	<i>h°</i>
<i>T3</i>	38,3±2,87 ^a	25,33±0,41 ^a	-4,87±0,18 ^a	349,11±0,49 ^a
<i>T7</i>	35,13±3,40 ^a ^b	18,59±1,06 ^b	1,63±0,97 ^b	5,16±3,21 ^b
<i>T8</i>	32,35±3,34 ^b	16,77±1,58 ^c	2,89±0,51 ^c	10,01±2,68 ^c
<i>T10</i>	31,01±3,33 ^b	14,25±1,29 ^d	4,56±0,53 ^d	17,95±3,37 ^d

Valores com letras diferentes na mesma coluna, apresentam diferença significativa ($p < 0,05$).

Houve um considerável aumento nos valores da coordenada L^* , que reflete a luminosidade da amostra, para todos os tratamentos encapsulados devido a luminosidade presente na água, uma vez que, as microesferas de alginato diminuíram a concentração do corante na proporção de 1:100 (m/v), deixando-o mais diluído do que no extrato. Dessa forma pode-se perceber que as cápsulas de alginato não dissolveram em água, sendo necessário um processo de filtragem para que a leitura no colorímetro não tivesse interferência das partículas. Fato semelhante foi relatado no estudo de Ferreira (2018) e Tonon, Brabet e Hubinger (2009), que encontraram valores maiores para coordenada L^* por conta da diluição das micropartículas em seus estudos com encapsulamento de betalaínas pelo método de gelificação iônica e spray drying, respectivamente.

Em relação a coordenada a^* , todos os tratamentos obtiveram valores positivos e aumento no valor dessa coordenada, o que sinaliza que a cor vermelha apresentou tonalidades mais claras, muito possivelmente por conta da menor quantidade de corante dissolvido em meio aquoso sob a mesma proporção, por conta do encapsulamento, em relação ao extrato. Além disso, todos os tratamentos diferiram significativamente entre si, onde T3 obteve maior valor pra coordenada a^* , consequentemente tonalidades mais claras de vermelho, tendendo mais ao roxo, corroborando com o valor negativo da coordenada b^* , que corresponde a coloração azul e pelo h° de $349,11 \pm 0,49$, que ao quadrante onde se localiza a transição entre a tonalidade azul e vermelha, predominando o roxo. O que pode ser justificado pela menor quantidade de betanina encontrada em relação as demais amostras (DALLA COSTA, 2015).

Embora os demais tratamentos tenham apresentado diferença significativa entre si ($p < 0,05$) para os parâmetros b^* e h° , todos eles apresentaram valores característicos da predominância de tonalidade de vermelho, mostrando que o processo de encapsulamento foi eficiente na preservação da coloração vermelha no corante, sendo percebidas instantaneamente após a dissolução das micropartículas em água.

5.2.8 Estabilidade das micropartículas

A estabilidade das betalaínas foram avaliadas durante 15 dias, sendo analisadas a cada 3 dias, com exceção do intervalo entre o 9º ao 15º dia, que decorreram-se 6 dias, não havendo a análise do 12º dia por conta do final de semana. A cada 3 dias foi realizada uma diluição de micropartículas contendo betalaínas em água, na proporção de 1:100 (m/v) e em seguida levadas ao espectrofotômetro para realização da análise da quantidade de betalaínas totais, conforme descrito no item 4.8. Embora as micropartículas tenham sido diluídas em água, a quantidade de betalaínas totais foi calculada em relação a base seca.

As microesferas estudadas na ausência de luz foram cobertas por papel alumínio e armazenadas em local protegido de luz, para que fosse observado se uma simples proteção de luz externa influenciaria na estabilidade das betalaínas. As microesferas estudadas na presença de luz foram colocadas em recipiente transparente em local com incidência de luz, sendo submetida a índices menores de luminosidade no período noturno. Os resultados da taxa de degradação foram expressos na tabela 12.

Tabela 12 Taxa de degradação das betalaínas na ausência de luz (AL) e em presença de luz (PL) ao longo de 15 dias.

Dia	Taxa de degradação (%) em AL				Taxa de degradação (%) em PL			
	D3	D6	D9	D15	D3	D6	D9	D15
T3	4,99±0,2 ^a	6,29±0,1 ^a	8,59±0,1 ^a	15,67±0,2 ^a	6,35±0,2 ^a	7,66±0,2 ^a	10,37±0,4 ^a	17,68±0,2 ^a
T7	5,55±0,6 ^a	7,85±0,3 ^b	9,72±0,6 ^a	16,27±0,4 ^{ab}	7,53±0,2 ^b	9,16±0,1 ^{ab}	12,36±0,7 ^{bc}	19,42±0,6 ^{ab}
T8	5,64±0,6 ^a	7,41±0,8 ^{ab}	9,17±1 ^a	16,91±0,4 ^{bc}	7,52±0,1 ^b	8,73±0,8 ^{ab}	11,49±0,5 ^{ab}	19,88±1,5 ^{bc}
T10	6,76±0,4 ^b	8,59±0,5 ^b	10,06±0,3 ^a	17,44±0,2 ^c	8,57±0,6 ^c	10,49±1,3 ^b	13,46±0,5 ^c	22,110,4 ^c

Valores com letras iguais na mesma coluna não diferem significativamente, valores com letras diferentes na mesma colunas diferem entre si ($p < 0,05$).

Pode-se observar que as taxas de degradação na ausência de luz (AL) durante os 15 dias de armazenamento foram menores do que na presença de luz (PL), confirmando a sua influência no processo de degradação do corante. Resultado semelhante aos de Santana (2019) em seu estudo com secagem por atomização do suco de pitaya vermelha, onde relatou que obteve percentual em torno de 15,75% e 20,55% de taxa de degradação de betalaínas em AL e PL, respectivamente, ao final de 15 dias. A imersão de luz na faixa UV visível excita os elétrons do cromóforo das betalaínas para um estado mais energético, iniciando maior reatividade ou

menor energia de ativação da molécula e favorecendo o processo degradativo (PACIULLI et al., 2016).

Já Ferreira (2018) obteve valores acima de 50% de taxa de degradação de betalaínas microencapsuladas com alginato, por meio de gelificação iônica após 14 dias de armazenamento sob refrigeração, valores muito abaixo dos encontrados o presente estudo. Muito provavelmente por conta das micropartículas não terem sido secas após a sua formação, migrando o ácido betalâmico para o meio usado para o armazenamento do corante encapsulado.

Ainda de acordo com a tabela 12, notou-se que T3 e T7 apresentaram menores taxas de degradação ao final dos 15 dias, com T3 diferindo significativamente ($p < 0,05$) dos demais tratamentos, possivelmente por conta que T3 e T7 foram os tratamentos com menor tempo de extração (603 segundos) associados ao pH (3 e 7, respectivamente) de extração dentro da faixa de estabilidade do pH das betalaínas que é entre 3-7 (CHIKKARA et al., 2019). Fato que está de acordo com os resultados de T10, embora tenha apresentado maior quantidade de betalaínas, obteve maiores percentuais de degradação, uma vez que o tempo de extração foi de 1050 minutos, associado ao extrato com pH 8, não sendo um valor citado por muitos autores como fator que contribui para estabilidade das betalaínas.

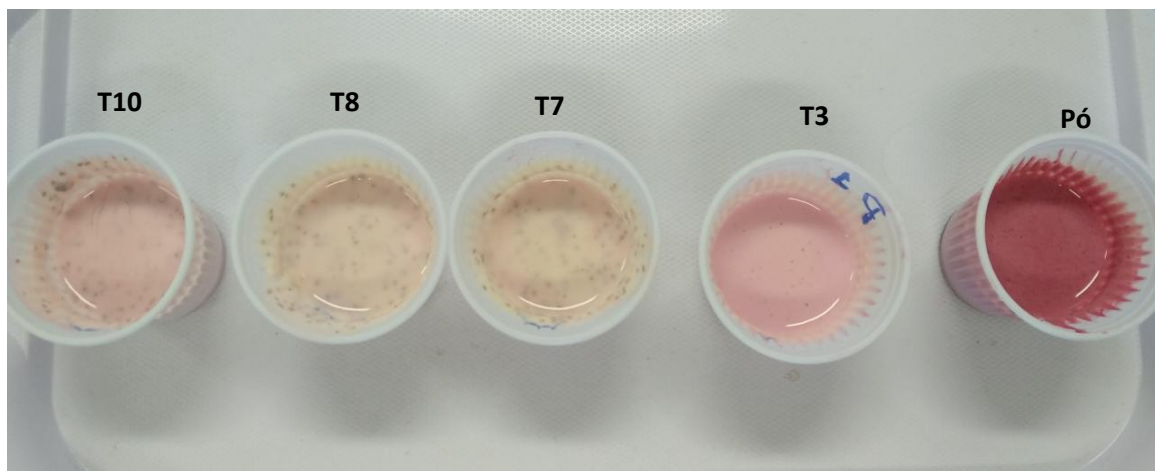
O baixo decréscimo das quantidades de betalaínas, associadas as baixas taxas de degradação mostrada na tabela, podem indicar que o processo de microencapsulamento proporcionou resultados satisfatórios em relação a estabilidade das betalaínas.

Otálora et al. (2018) mostraram que a taxas de degradação das betalaínas foram menores ao longo do armazenamento para amostras submetidas a algum processo de encapsulamento, tanto por gelificação iônica quanto por spray drying em relação a amostra controle que não foi encapsulada.

5.3 Etapa 3 – Incorporação do corante encapsulado em matriz alimentícia

A incorporação do corante em matriz alimentícia ocorreu pela adição de 0,1875g de micropartículas obtidas dos tratamentos T3, T7, T8, T10 e do pó das cascas de beterraba (utilizados para extração dos corantes) como tratamento controle, em iogurte natural de coloração branca. O corante encapsulado foi pesado e em seguida misturado ao iogurte, apresentando coloração conforme mostra a figura 12.

Figura 12 Iogurte adicionado de corantes microencapsulados e do pó das cascas de beterraba.



Fonte: o autor

T3 obteve coloração semelhante ao iogurte natural adicionado de microcápsulas de maltodextrina contendo corante obtido pela secagem por atomização do suco de pitaya vermelha (*Hylocereus costaricensis*) cultivada na região amazônica (SANTANA, 2019).

Após a incorporação das micropartículas, notou-se a presença de grumos nas amostras devido as esferas de alginato não se dissolverem após o processo de rncapsulamento, promovendo apenas a liberação dos corantes. Outro fato observado na figura 12 foi em relação a coloração intensa da amostra contendo o pó das cascas liofilizadas, ocorrendo devido a quantidade de corante presente ser maior e não estarem encapsuladas. Para avaliar de forma mais precisa os resultados da incorporação desse corante em matriz alimentícia, foi realizada uma análise sensorial visual do produto, a fim de revelar a aceitabilidade de provadores não treinados, consumidores desse tipo de produto em relação ao corante.

5.3.1 Análise Sensorial

5.3.1.1 Perfil dos provadores

A análise sensorial foi realizada com 110 provadores não treinados, no Instituto de Cultura e Arte (ICA) da Universidade Federal do Ceará, onde 84,5% tinham idade entre 18 a 25 anos, segunda menor faixa etária da pesquisa e 52,7% dos provadores eram do sexo masculino.

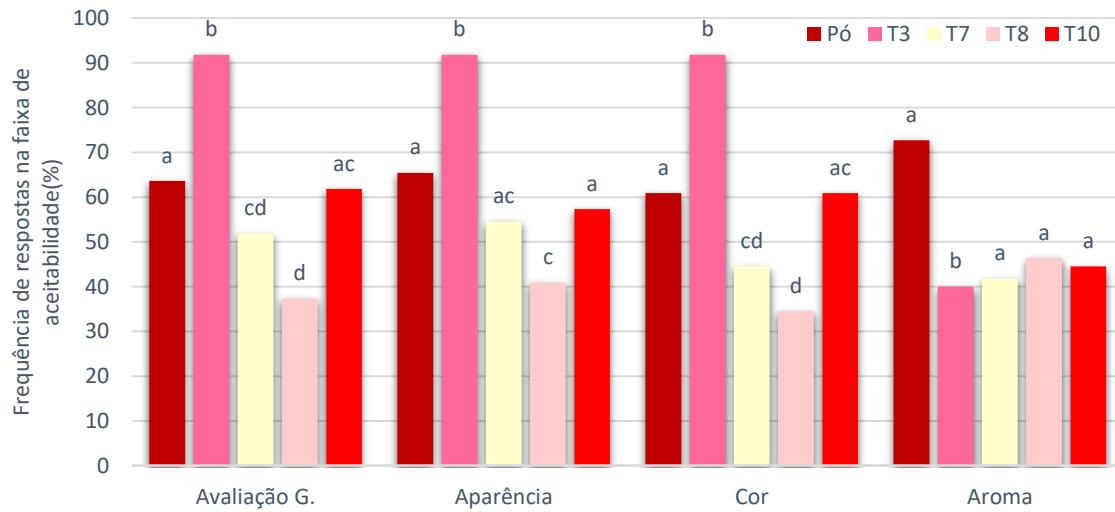
Em relação ao consumo de iogurte, os 110 provadores foram perguntados quanto a frequência do consumo, a preferência de iogurte de modo geral e de iogurte de morango (devido a presença de coloração rosa nas amostras, assemelhando-se a iogurte com sabor de morango) dos quais 76,3% responderam consumir esse tipo de produto de forma geral pelo menos uma vez no período de 15 dias, sendo que a maioria dessa porcentagem consome pelo menos 1 vez por semana e 63,6% responderam consumir iogurte de morango na mesma frequência, mostrando que dos consumidores desse produto, a maioria opta pelo sabor morango.

Já em relação à preferência, a maioria respondeu gostar moderadamente de iogurte de forma geral, semelhante a preferência pelo iogurte de morango, onde a maioria respondeu gostar moderadamente desse sabor.

5.3.1.2 Teste de aceitabilidade

O teste de aceitabilidade foi realizado com o auxílio de uma escala hedônica estruturada de nove pontos, dos quais quatro pontos compreendem a faixa de aceitabilidade do produto variando os termos entre “gostei ligeiramente” e “gostei extremamente”, para análise dos atributos avaliação global, aparência, cor, aroma e coloração rosa. Os resultados foram apresentados no gráfico 6.

Gráfico 6 Respostas referentes a escala hedônica do teste de aceitação para os atributos avaliação global, aparência, cor, aroma e cor rosa do iogurte.



Barras de um mesmo atributo com letras iguais não diferem significativamente entre si, barras de um mesmo atributo com letras diferentes, diferem entre si significativamente ($p < 0,05$). Pó: pó das cascas liofilizadas da beterraba, T3: tratamento extraído com amplitude de 89,9%, pH 4 e tempo de 603,6 segundos; T7: tratamento extraído com amplitude de 89,9%, pH 7 e tempo de 603,6 segundos; T8: tratamento extraído com amplitude de 89,9%, pH 4 e tempo de 1496,4 segundos; T10: tratamento extraído com amplitude de 75%, pH 8 e tempo de 1050 segundos;

Através do gráfico 6 pode-se observar que o tratamento 3 obteve porcentagens acima de 90% em relação a respostas dentro da faixa de aceitabilidade para os atributos avaliação global, aparência e cor, diferindo significativamente dos demais tratamentos ($p < 0,05$). Possivelmente, por ter sido a amostra que mais se assemelhou a um iogurte de morango comercial, uma vez que, a maioria dos provadores que participaram da análise sensorial visual, responderam positivamente em relação ao consumo e a aceitabilidade de iogurte de morango. Corroborando com a análise de cor, onde T3 obteve coloração mais próximos da tonalidade rosa e a análise de taxa de retenção das betalaínas que podem ter favorecido a coloração desse tratamento.

Já T8 foi uma das amostras que obteve maior quantidade de betalaínas após o processo de microencapsulamento, porém, foi a amostra que recebeu menor frequência de respostas dos provadores dentro da faixa de aceitabilidade para os atributos avaliação global, aparência e cor. A cor da amostra contendo microesferas do T8 apresentaram coloração menos intensa em relação a tonalidade vermelha, o que pode estar associado aos resultados obtidos pela taxa de degradação desse tratamento, que apresentou um dos maiores percentuais, em

relação aos demais tratamentos ao longo de 15 dias, Ou ainda devido a quantidade de corante utilizado na incorporação do iogurte.

Diversos autores em seus trabalhos associaram a coloração com tons de vermelho a alta aceitabilidade de iogurte natural em estudos relacionado ao encapsulamento de corante natural a base de betalaínas (SANTANA, 2019, SARDELLA, 2016, OLIVEIRA, 2013), reforçando a importância da cor para uma alta taxa de aceitabilidade do produto.

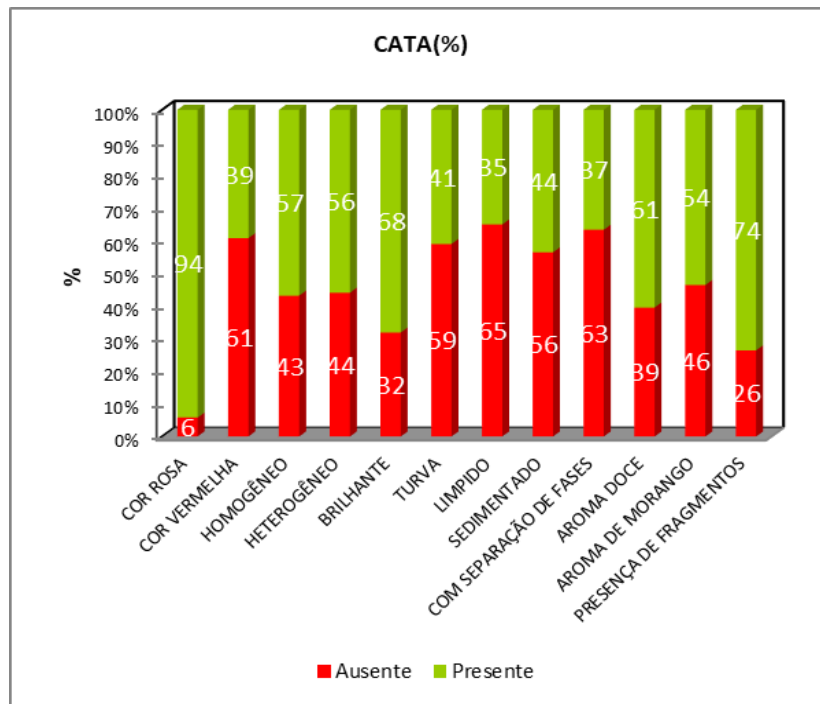
Em relação a aparência, os tratamentos T7, T8 e T10 obtiveram percentuais abaixo de 60%, que pode ter sido influenciado pela presença de fragmentos presentes em maior quantidade nessas amostras. Sardella (2016) comentou que em seu estudo de produção, caracterização e aplicação de extrato de beterraba microencapsulado em matrizes de maltodextrina e amido modificado, que a presença de fragmentos é um possível fator de rejeição nas amostras.

De forma geral, pode-se inferir que os tratamentos 3, 10 e o pó obtiveram resultados positivos para os atributos avaliação global, aparência e cor, pois obtiveram percentuais elevados em relação a aceitabilidade visual dos produtos. Mas, para que se pudesse ter um resultado mais completo em relação as características percebidas pelos provadores, foram realizado uma análise de correspondência (CA) em relação a alguns atributos através do método *Check-all-that-apply (CATA)*.

5.3.1.3 Check-all-that-apply (CATA)

Para o estudo das características dos tratamentos percebidas pelos provadores, foram colocados 16 termos na ficha do CATA que caracterizassem as amostras. Desses, 12 foram significativos ($p < 0,05$) em relação a percepção e identificação dos termos das amostras relacionado ao número de vezes que foram marcados. A frequência de registro desses termos estão apresentados gráfico 7.

Gráfico 7 Percentual da frequência de registros das características sensoriais ($p < 0,05$).



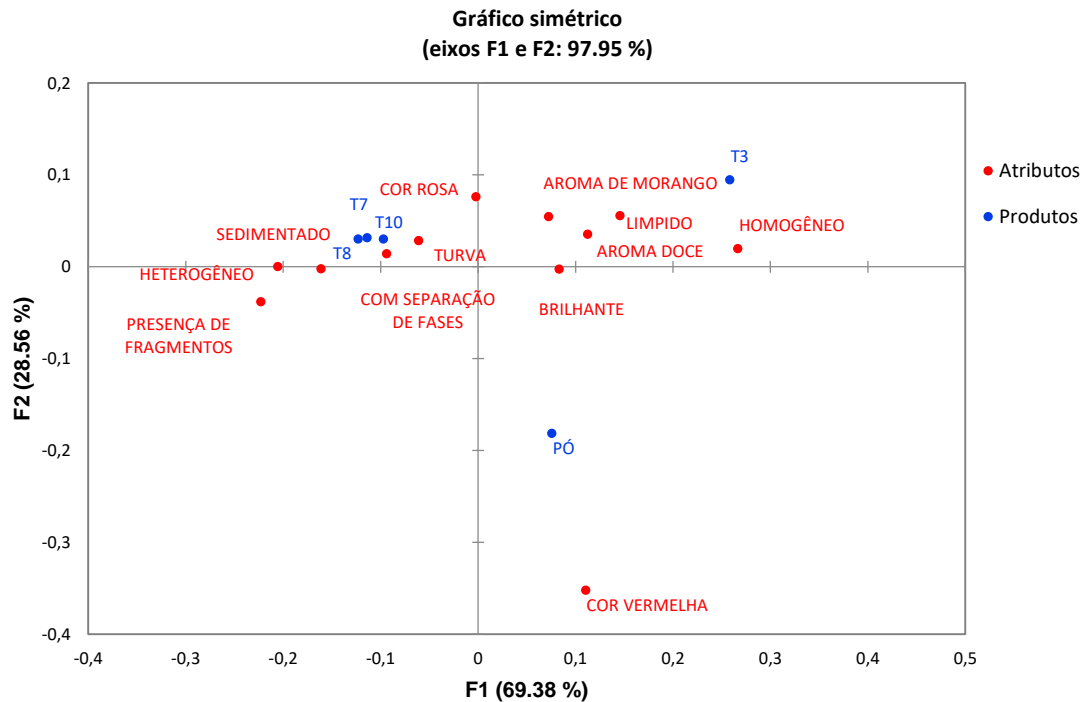
Fonte: o autor

A cor rosa foi o termo com maior frequência (94%) de registro, sendo uma característica presente nas amostras por conta da coloração em tons de vermelho inerentes às betacianinas contidas no corante (RODRIGUEZ-AMAYA, 2019). Outro termo muito citado pelos provadores foi a presença de fragmentos, devido as micropartículas de alginato, que não foram retiradas do iogurte, sendo misturadas e deixadas suspensa no produto.

Esse fato ocorre por conta da formação das micropartículas de alginato, que uma vez formadas através da reticulação em banho de cálcio, não são diluídas em sistema aquoso (LUPO et al., 2015).

Para análise da influência e distribuição dos termos mencionados pelos provadores como características presente nas amostras, foi feito a Análise de Múltiplos Fatores (AMF) (ARES et al., 2014), que mostra a partir de dois eixos, com 97,95% da variação entre os dados, sendo 69,38% na eixo 1 e 28,56% no eixo 2, o quanto uma determinada característica foi percebida ou não em relação as demais, conforme mostra o gráfico 8.

Gráfico 8 Análise de componentes principais (ACP) dos atributos.



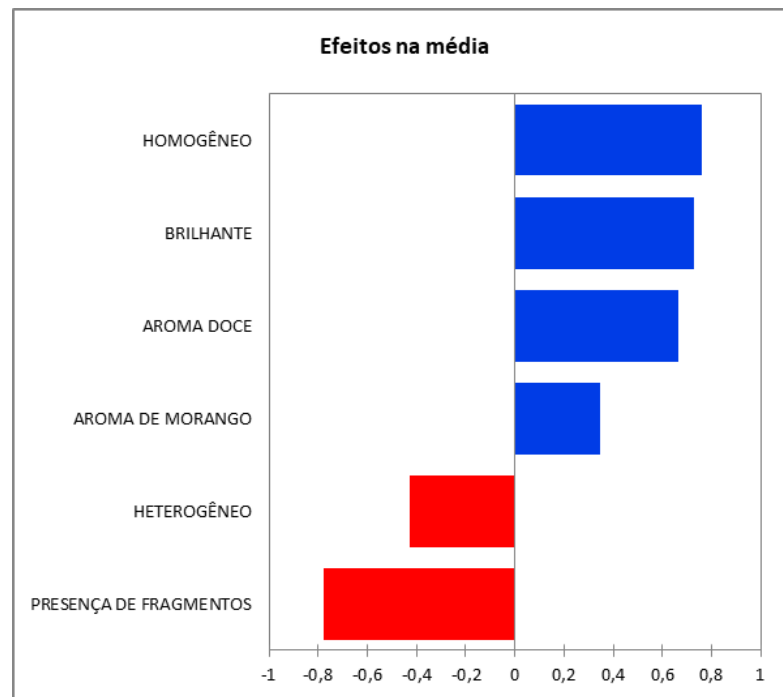
Pó: pó das cascas liofilizadas da beterraba, T3: tratamento extraído com amplitude de 89,9%, pH 4 e tempo de 603,6 segundos; T7: tratamento extraído com amplitude de 89,9%, pH 7 e tempo de 603,6 segundos; T8: tratamento extraído com amplitude de 89,9%, pH 4 e tempo de 1496,4 segundos; T10: tratamento extraído com amplitude de 75%, pH 8 e tempo de 1050 segundos;

A independência entre os tratamentos e os perfis sensoriais foi testada através do cálculo de Qui-quadrado. Como o valor $p < 0,05$, pode-se concluir que é muito provável que existam diferenças reais entre os produtos em termos de seus perfis sensoriais.

O eixo F2 separou as amostras com adição de corantes encapsulados da amostra controle, adicionada do pó das cascas liofilizadas, diferenciando-a das demais em relação ao atributo cor, associado a cor rosa, verificada para os quatro tratamentos, enquanto que para o pó foi atribuído a cor vermelha com maior frequência devido ao fato de estar mais concentrado por não estar encapsulado.

Através do gráfico 8, pode-se observar também que as características mais significativas foram, homogêneo, límpido, aroma de morango, aroma doce, cor rosa e brilhante. T3 foi apontado pelos provadores como o tratamento que mais foi percebido esses atributos, fato confirmado pelo gráfico de impacto médio dos principais perfis sensoriais mostrado pelo Gráfico 9.

Gráfico 9 Impacto médio dos principais perfis sensoriais das amostras de iogurte.



Barras a direita sinaliza impacto médio positivo nos atributos das amostras e barras a esquerda sinaliza impactos negativos

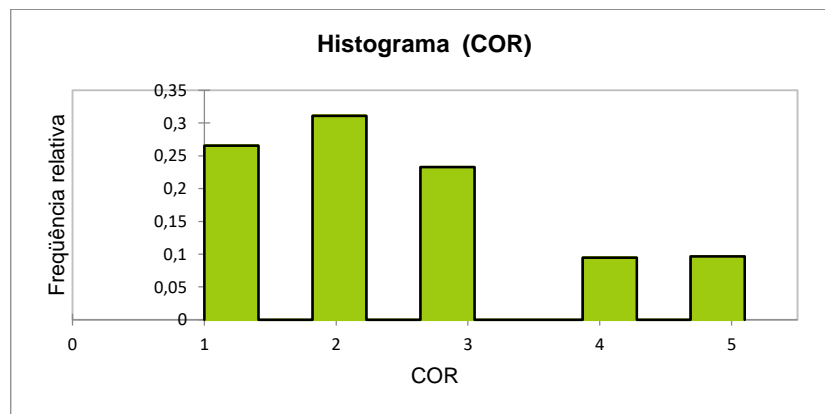
O gráfico mostra que as características sensoriais (homogêneo, brilhante, aroma doce e aroma de morango) representam o aumento médio positivo (barras azul), demonstrando que esses atributos foram os mais significativos para os produtos, ou seja, representam as características que a amostra deve ter. Enquanto as características heterogêneo e presença de fragmentos, representam o aumento médio negativo (barra vermelha), mostrando os atributos que as amostras não devem ter. Os dados do gráfico 9 estão em total acordo com o teste de aceitação das amostras analisadas, onde os tratamentos relatados como os que mais apresentaram os atributos de efeitos negativos (heterogêneo e presença de fragmentos), foram exatamente os que obtiveram menores níveis de aceitação para todos os atributos (T7 e T8).

Outro fato relevante mostrado pelo gráfico é de que o aroma de morango foi um dos termos significativos para uma boa aceitabilidade da amostra, embora não houvesse nenhum tipo de ingrediente nas amostras, que fizesse referência ao aroma da fruta de morango, sendo possivelmente associado ao aroma da fruta, por conta da coloração e consistência idênticas as de um iogurte de morango comercial.

5.3.1.1 Teste de idealidade

O resultado para o teste de idealidade foi realizado com a média de todas as notas de cada amostra, fornecidas pelos 110 provadores, totalizando 550 respostas do quanto ideal estava a cor dos iogurtes, os resultados estão apresentados no gráfico 10

Gráfico 10 Histograma de escala do ideal.



Resultados expressos em relação a frequência relativa do total de respostas

Pode-se notar pelo histograma, que os resultados da frequência relativa, ficaram entre pouco ideal e ideal (1 e 2 no gráfico), sinalizando que a intensidade da cor está ligeiramente abaixo da que seria considerada como ideal. Além disso, a barra atribuída ao número 3 que representa a coloração ideal, mostra que a frequência de provadores que respondeu que a cor de um determinado tratamento foi ideal pode ser considerada relevante em relação às demais.

Os resultados obtidos pela análise sensorial de iogurte contendo betalaínas encapsuladas, extraídas de fontes naturais foram satisfatórios quanto à idealidade da cor dos produtos, uma vez que, o tratamento 3 obteve resultados próximos à idealidade, sinalizando que mais testes aumentando a concentração de corante incorporado no iogurte pode trazer resultados com maior taxa de respostas consideradas ideais. Resultados semelhantes foram encontrados em amostras comerciais de petit suisse contendo corante encapsulado com maltodextrina e amido modificado, as amostras com maior frequência de idealidade de cor foram as amostras contendo maior concentração de betalaína, apresentando coloração mais próxima a um iogurte de morango comercial (SARDELLA, 2016). Mostrando o quanto os corantes naturais microencapsulados podem ser relevantes.

6 CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos no presente estudo, pode-se concluir que as variáveis independentes (amplitude, pH e tempo) influenciaram de forma significativa nas variáveis dependentes (quantidade de betalaínas, polifenóis, atividade antioxidante e cor) dos extratos aquosos durante o processo de extração assistida por ultrassom (EAU) do corante do co-produto da beterraba (*Beta vulgaris* L.). Pode-se observar que a faixa de pH foi um dos fatores determinantes para a extração e preservação de compostos bioativos da beterraba. Além disso, os resultados evidenciados pela metodologia de superfície de resposta revelou que o método de EAU, quando associado a mecanismos que controlem a elevação de temperatura durante o processo de cavitação, pode proporcionar extração de alta quantidade de betalaínas e polifenóis da beterraba, com alto potencial antioxidante. Porém, pode-se concluir também que esses compostos bioativos que compõem o corante da beterraba são altamente instáveis, sendo facilmente degradados por ação de agentes como alta temperatura, presença de luz e pH.

O método de encapsulamento por gelificação iônica, com alginato como material de parede associados a secagem por liofilização, gerou tamanhos de partículas em escala micro, proporcionando alta taxa de retenção dos compostos bioativos e da atividade antioxidante, sinalizando que o método de microencapsulamento pode ser um meio de aumentar a estabilidade do corante. Além disso, o processo de microencapsulamento proporcionou maior estabilidade na manutenção da coloração vermelha do corante para o tratamento 3 extraído com 89,9% de amplitude do ultrassom, com pH 4 e tempo de 603,4 segundos. Já em relação a estabilidade, a exposição a luz das micropartículas contendo corante, dentro do período estudado, proporcionou uma leve aceleração na degradação das betalaínas.

As micropartículas apresentaram alto potencial para serem incorporados em matriz alimentícia, onde o tratamento 3 foi o mais bem aceito visualmente em relação a sua avaliação global, aparência, cor e aroma, quando incorporado em iogurte natural de cor branca, sendo associado a iogurte de morango, com aroma de morango por conta da semelhança na coloração.

REFERÊNCIAS

- AGUILAR, K. C.; TELLO, F.; BIERHALZ, A. C. K.; ROMO, M.A. G. G.; FLORES, H. E. M.; GROSSO, C. R. F. Protein adsorption onto alginate-pectin microparticles and films produced by ionic gelation. **Journal of Food Engineering**, [s.l.], v. 154, p. 17–24, 2015.
- AHMED, M. M.; EL-RASOUL, S. A.; AUDA, S. H.; IBRAHIM, M. A. Emulsification/internal gelation as a method for preparation of diclofenac sodium–sodium alginate microparticles. **Saudi Pharmaceutical Journal**, [s.l.], v. 21 61–69, 2013.
- ALBAHARI, P.; JUG, M.; RADIĆ, K.; JURMANOVIĆ, S.; BRNČIĆ, M.; BRNČIĆ, S. R.; FERREIRA, C. F. R. Characterization of olive pomace extract obtained by cyclodextrin-enhanced pulsed ultrasound assisted extraction. **LWT - Food Science and Technology**, [s.l.], v. 92, p. 22-31, 2018.
- ANDRADE, R. M. S.; FERREIRA, M. S. L.; GONÇALVES, E. C. B. A. Functional capacity of flour obtained from fruit and vegetable residues. **International Food Research Journal**, [s.l.], v. 21, p. 1675-1681, 2014.
- ANANDHARAMAKRISHNAN, C.; RIELLY, C. D.; STAPLEY, A. G. Spray-freeze-drying of whey proteins at sub-atmospheric pressures. **Dairy Science & Technology**, [s.l.], v, 90 (2–3), p. 321–334, 2010.
- ANWAR, S. H.; KUNZ, B. The influence of drying methods on the stabilization of fish oil microcapsules: Comparison of spray granulation, spray drying, and freeze drying. **Journal of food Engineering**, [s.l.], v, 105, ed. 2, p. 367–378, 2011.
- ANTIGO, J. L. D.; BERGAMASCO, R. C; MADRONA, G. S. Effect of ph on the stability of red beet extract (*Beta vulgaris* l.) microcapsules produced by spray drying or freeze drying. **Food Science and Technology**, Campinas, São Paulo, v, 38, p. 72-77, 2018.
- ARES, G.; DAUBER, C.; FERNÁNDEZ, E.; GIMÉNEZ, A.; VARELA, P. Penalty analysis based on CATA's questions to identify the motivators and directions of product reformulation. **Quality and Food Preference**, [s.l.], v. 32A, p. 65-76. 2014.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. Arlington: AOAC, [s.l.], p. 500, 2007.
- AZEREDO, H. M. C. Betalains: properties, sources, applications, and stability – a review. **International Journal of Food Science and Technology**. Fortaleza, Ceará, v. 44, p. 2365 - 2376, 2009.
- BALDWIN, E. A.; HAGENMAIER, R.; BAI, J. **Edible coatings and films to improve food Quality**. 2nd ed. CRC Press, Taylor e Francis group. London, New York, 2011.
- BASSI, C. **Consumo certo**: dicas para aproveitar o melhor que a beterraba tem a oferecer: o poder da beterraba. [s.l.; s.n.], ano 1, n. 1, 2014.

BENAVIDES, S.; CORTÉS, P.; PARADA, J.; FRANCO, W. Development of alginate microspheres containing thyme essential oil using ionic gelation. **Food Chemistry**, Santiago, v. 204, p. 77–83, 2016.

BOTH, S.; CHEMAT, F.; STRUBE, J. Extraction of polyphenols from black tea – conventional and ultrasound assisted extraction. **Ultrason Sonochemistry**, [s.l.], v. 21, p.1030-1034, 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº46 de 23 de outubro de 2008. Adotar o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados, anexo à presente Instrução Normativa. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília**, DF, p. 4, 2008.

BRESSIANIA, J.; SCHWARZA, K.; GATTIA, R. R.; DEMÁRIO, R. L.; FREIRE, P. L. I. Desperdício Alimentar x Aproveitamento Integral de Alimentos: Elaboração de Bolo de Casca de Banana. **Uniciências**, Paraná, v. 21, n. 1, p. 39-44, 2017.

BRIONES-LABARCA, V.; PLAZA-MORALES, M.; GIOVAGNOLI-VICUÑA, C.; JAMETT, F. High hydrostatic pressure and ultrasound extractions of antioxidant compounds, sulforaphane and fatty acids from Chilean papaya (*Vasconcellea pubescens*) seeds: Effects of extraction conditions and methods. **LWT - Food Science and Technology**, La Serena, Chile, v. 60, p. 525-534, 2015.

BRITO, T. B.; CARRAJOLA, J. F.; GONÇALVES, E. C. B. A.; MARTELLI-TOSI, M.; FERREIRA, M. S. L. Fruit and vegetable waste flour of different particle size as the raw material for the preparation of pectin-enriched biodegradable films. **Food Research International**, Rio de Janeiro, v. 121, p. 412-421, 2019.

BRUNINI, M. A. Caracterização física e química de acerolas provenientes de diferentes regiões de cultivo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Minas Gerais, v. 26, n. 3, p. 486-489, 2006.

BUREY, P.; BHANDARI, B. R.; HOWES, T. Hydrocolloid gel particles :formation, characterization. **Food Science and Nutrition**, [s.l.], p. 37–41, 2012.

CALVO, T. R. A.; PERULLINI, M.; SANTAGAPITA, P. R. Encapsulation of betacyanins and polyphenols extracted from leaves and stems of beetroot in Ca(II)-alginate beads: A structural study. **Journal of Food Engineering**, Buenos Aires, Argentina, v. 235, p. 32-40, 2018.

CALVO, T. R. A.; SANTAGAPITA, P. R.; PERULLINI, M. Functional and structural effects of hydrocolloids on Ca(II)-alginate beads containing bioactive compounds extracted from beetroot. **LWT - Food Science and Technology**, Buenos Aires, Argentina, v. 111, p. 520-526. 2019.

CALVO, T. R. A.; SANTAGAPITA, P. R. Physicochemical characterization of alginate beads containing sugars and biopolymers. **Journal of Quality and Reliability Engineering**, Buenos Aires, Argentina, article ID 9184039, 7 pages, 2016.

- CARMO, E. L.; TEODORO, R. A. R.; FÉLIX, P. H. C.; FERNANDES, R. V. B.; OLIVEIRA, E. R.; VEIGA, T. R. L. A.; BORGES, V. B.; BOTREL, D. A. Stability of spray dried beet extract using whey oligosaccharides and proteins. **Food Chemistry**, Lavras, Minas Gerais, v. 249, p. 51-59, 2018.
- CAROCHO, M.; MORALES, P.; FERREIRA, I.C.F.R. Natural food additives: Quo vadis? **Tendências em Ciência e Tecnologia de Alimentos**, [s.l.], v. 45, n. 2, p. 284-295, 2015.
- CELLI, G. B.; BROOKS, M. S. L. Impact of extraction and processing conditions on betalains and comparison of properties with anthocyanins - a current review. **Food Research International**, Canadá, v. 100, p. 501-509, 2017.
- CHANDRAN, J.; NISHA, P.; SINGHAL, R. S.; PANDIT A. B. Degradation of colour in beetroot (*Beta vulgaris* L.) a kinetic study. **Journal of Food Science and Technology**, [s.l.], v. 51, p. 2678-2684, 2012.
- CHEMAT, F.; ROMBAUT, N.; SICAIRE, A.G.; MEULLEMIESTRE, A.; FABIANO-TIXIER, A.S.; ABERT-VIAN, M. Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. **Ultrasonics Sonochemistry**, Avignon, França, v. 34, p. 540-560, 2017.
- CHHIKARA, N.; KUSHWAHA, K.; SHARMA, S.; GAT, Y.; PANGHA, A. Bioactive compounds of beetroot and utilization in food processing industry: A critical review. **Food Chemistry**, Índia, v. 272, p. 192-200, 2019.
- CISSÉ, M.; BOHUON, P.; SAMBE F.; KANE, C.; SAKHO, M.; DORNIER, M. Aqueous extraction of anthocyanins from *Hibiscus sabdariffa*: Experimental kinetics and modeling. **Journal of Food Engineering**, Montpellier, França, v. 109, p. 16–21, 2012.
- CLARK, A. H.; CHEN, M. A.; LIN, C. W. Scrutural and mechanical propriets of biopolymers gels. **International Journal of Food Science and Techonology**, [s.l.], v. 76, n. 3, p. 57–192, 1987.
- CLIFFORD, T.; HOWATSON G.; WEST D. J.; STEVENSON, E. J. The potential benefits of red beetroot supplementation in health and disease. **Nutrients**, [s.l.], v. 7, p. 2801-2822, 2015.
- COLES, L. T.; CLIFTON, P. M. Effect of beetroot juice on lowering blood pressure in free-living, disease-free adults: A randomized, placebo-controlled trial. **Journal of Nutrition**, Melbourne, Austrália, v. 11, p. 106, 2012.
- COMUNIAN, T. A.; FAVARO-TRINDADE, C. S. Microencapsulation using biopolymers as an alternative to produce food enhanced with phytosterols and omega-3 fatty acids: A review. **Food Hydrocolloids**, São Paulo, v. 61, p. 442–457, 2016.
- CORRÊA, C. V. Produção de beterraba em função do espaçamento. **Horticultura Brasileira**, Vitória da Conquista, v. 32, p. 111-114, 2014.
- COUPLAND, J. N.; JULIS. E. H. Physical approaches to masking bitter taste: Lessons from Food and Pharmaceuticals. **Pharmaceutical Research**, [s.l.], v. 31, p. 2921–2939, 2014.

- DALLA COSTA, A. P. **Aproveitamento de resíduos de cenoura e beterraba da indústria de minimamente processados para elaboração de ingredientes funcionais.** 97f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2015.
- DELIA, S. C.; CHÁVEZA, G. M.; FRANK, M. L. M.; ARACELI, S. G. P.; IRAIS, A. L. FRANCO, A. L. Spray drying microencapsulation of betalain rich extracts from *Escontria chiotilla* and *Stenocereus queretaroensis* fruits using cactus mucilage. **Food Chemistry**, Oaxaca, México, v. 272, p. 715–722, 2019.
- DESAI, K. G. H.; JIN PARK, H. Recent developments in microencapsulation of food ingredients. **Drying Technology**, Seoul, Coreia do Sul, v. 23, n.7, 1361-1394, 2005.
- DI GENOA, B. M.; LOPES, N. B.; GONÇALVES, L. C. P.; MALASPINA, T.; BASTOS, E. L. Estudo teórico-experimental da influência do pH sobre a estrutura da betanina. **Anais da 32ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química: Sociedade Brasileira de Química**, São Paulo, p. QO-041-QO-041. 2009.
- DOWNHAM, A.; COLLINS, P. Colouring our food in the last and next millennium. **International Journal Food Science and Technology**, Reino Unido, v. 35, p. 5-22, 2000.
- ELBE, J. H. V.; WROLSTAD, R. E.; ACREE, T. E.; AN, H.; DECKER, M. H.; PENNER, D. S.; REID, S. J.; SHOEMAKER, C. F.; SPORNS, P. (Eds.), **Current protocols in food analytical chemistry**, John Wiley and Sons Inc, New York, p. F3.1.1-F3.1.7, 2001.
- ESCRIBANO, J.; CABANES, J.; JIMÉNEZ-ATIÉNZAR, M.; IBAÑEZ-TERMOLADA, M.; GÓMEZ-PANDO, L.R.; GARCÁ-CARMONA, F.; GANDÍA-HERRERO, F. Characterization of betalains, saponins and antioxidant power in differently colored quinoa (*Chenopodium quinoa*) varieties. **Food Chemistry**, Murcia, Espanha, v. 234, p. 285–294, 2017.
- FAO. Perdas e desperdícios de alimentos na América Latina e no Caribe. Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura, [s.l.], p. 23, 2016.
- FERREIRA, L. P. C. **Microencapsulação de extrato de beterraba pelo processo de gelificação iônica.** 60f. (Dissertação) Mestrado em Ciência da Nutrição. Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, Sergipe, 2018.
- FERREIRA, M. S. L.; SANTOS, M. C. P.; MORO, T. M. A.; BASTO, G. J.; ANDRADE, R. M. S.; GONÇALVES, E. C. B. A. Formulation and characterization of functional fruit and vegetable flour foods. **Food Science and Technology Research**, Rio de Janeiro, v.52, p. 822-830, 2015.
- FERREIRA, N. A. **Aproveitamento de resíduos do processamento mínimo de beterraba: elaboração de produtos tecnológicos, avaliação sensorial, físico-química e de compostos funcionais.** Brasília, 2010. 150 f. Dissertação (Mestrado em Nutrição Humana) – Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília, 2010.
- FUJIWARA, G. M.; CAMPOS, R.; COSTA, C. K.; DIAS, J. F. G.; MIGUEL, O. G.; GANGULY, M. A.; ALEXEENKO, A. A.; SCHULTZ, S. G.; KIM, S. G. Freeze-drying

simulation framework coupling product attributes and equipment capability: Toward accelerating process by equipment modifications. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, West Lafayette, Indiana, v. 85, n. 2, p. 223–235, 2013.

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

GENGATHARAN, A.; DYKES, G. A.; CHOO, W. S. Betalains: Natural plant pigments with potential application in functional foods. **LWT - Food Science and Technology**, Selangor, Malasia, v. 64, p. 645–649, 2015.

GEORGIEV, V. G.; WEBER J.; KENESCHKE, E. M.; DENEV, P. N.; BLEY, T.; PAVLOV, A. I. Antioxidant activity and phenolic content of betalain extracts from intact plants and hairy root cultures of the red beetroot *Beta Vulgaris* C. V. Detroit Dark Red. **Plant Foods for Human Nutrition**, [s.l.], v. 65, p. 105–111, 2010.

GHITESCU, R. E.; VOLF, L.; CARAUSU, C.; BÜHLMANN, A. M.; GILCA, I. A.; POPA, V. I. Optimization of ultrasound-assisted extraction of polyphenols from spruce wood bark. **Ultrason Sonochemistry**, Iasi, Romania, v. 22, p. 535–541, 2015.

GONÇALVES, L. C. P.; MARCATO, A. C.; RODRIGUES, A. C. B.; PAGANO, A. P. E.; FREITAS, B. C.; MACHADO, C. O.; NAKASHIMA, K. K.; ESTEVES, L. C.; LOPES, N. B.; BASTOS, E. L. Betalaínas: das Cores das Beterrabas à Fluorescência das Flores. **Revista Virtual de Química**, São Paulo, v. 7, n.1, 2015.

GONÇALVES, L. C. P.; TRASSI, M. A. S.; LOPES, N. B.; DÖRR, F. A.; SANTOS, M. T.; BAADER, W. J.; OLIVEIRA JR., V. X.; BASTOS, E. L. A comparative study of the purification of betanin. **Food Chemistry**, São Paulo, v. 131, p. 231–238, 2012.

GONZÁLEZ-CENTENO, M. R. COMAS-SERRA, F.; FEMENIA, A. ROSSELLÓ, C. SIMAL, S. Effect of power ultrasound application on aqueous extraction of phenolic compounds and antioxidante capacity from grape pomace (*Vitis vinifera* L.): experimental kinetics and modeling. **Ultrason Sonochemistry**, Palma de Maiorca, Espanha, v. 22, p. 506–514, 2015.

GORBUNOVA, N.; BANNIKOVA, A.; EVTEEV, A.; EVDOKIMOV, I.; KASAPIS, S. Alginate-based encapsulation of extracts from beta *Vulgaris* cv. beet greens: Stability and controlled release under simulated gastrointestinal conditions. **LWT - Food Science and Technology**, Saratov, Russia, v. 93, p. 442–449, 2018.

GOULA, A. M.; VERVERI, M.; ADAMOPOULOU, A.; KADERIDES, K. Green ultrasound-assisted extraction of carotenoids from pomegranate wastes using vegetable oils. **Ultrasonics Sonochemistry**, Thessaloniki, Grécia, v. 34, p. 821–830, 2017.

GULDIKEN, B.; TOYDEMIR, G.; NUR MEMIS, K.; OKUR, S.; BOYACIOGLU, D.; CAPANOGLU E. Home-processed red beetroot (*Beta vulgaris* L.) Products: Changes in antioxidant properties and bioaccessibility. **International Journal of Molecular Sciences**, Istanbul, Turquia, v. 17, p. 858, 2016.

HERBACH, K. M.; STINTZING, F. C.; CARLE, R. Betalain stability and degradation - structural and chromatic aspects. **Journal of Food Science**, Stuttgart, Alemanha, v. 71, p. R41-R50, 2006.

KATHIRAVAN, T.; NADANASABAPATHI, S.; KUMAR, R. Standardization of process condition in batch thermal pasteurization and its effect on antioxidant, pigment and microbial inactivation of Ready to Drink (RTD) beetroot (*Beta vulgaris* L.) juice. **International Food Research Journal**, [s.l.], v. 21, p. 1305, 2014.

KAUSHIK, P.; DOWLING, K. B.; KIM, B.; COLIN, J.; BENU A.; ADHIKARI, G.H. Microencapsulation of omega-3 fatty acids: A review of microencapsulation and characterization methods. **Journal of Functional Foods**, [s.l.], v. 19, p. 868–881, 2015.

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

KHAN, M. I.; GIRIDHAR, P. Plant betalains: Chemistry and biochemistry. **Phytochemistry**, Guwahati, India, v. 117, p.267-265, 2015.

KOUBAIER, H. B. H.; SNOUSSI, A.; ESSAIDI, I.; CHAABOUNI, M. M.; THONART, P.; BOUZOUITA, N. Betalain and Phenolic Compositions, Antioxidant Activity of Tunisian Red Beet (*Beta vulgaris* L. conditiva) Roots and Stems Extracts. **International Journal of Food Properties**, Tunis, Tunísia, n. 17, p. 1934-1945, 2014.

LAOKULDILOK, T.; KANHA, N. Effects of processing conditions on powder properties of black glutinous rice (*Oryza sativa* L.) bran anthocyanins produced by spray drying and freeze drying. **LWT-Food Science and Technology**, Chiang Mai, Tailandia, v. 64, n. 1, 405-411, 2015.

LAQUI-VILCA, C.; AGUILAR-TUESTA, S.; MAMANI-NAVARRO, W.; JOSEMONTAÑO-BUSTAMANTE, J.; CONDEZO-HOYO, L. Optimum ultrasonic assisted extraction and thermal stability of colored quinoa peel betaine (*Chenopodium quinoa* W.). **Industrial Crops and Products**, [s.l.], v. 111, p. 606-614, 2018.

LARRAURI, J. A.; RUPÉREZ, P.; SAURACALIXTO, F. Effect of drying temperature on the stability of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomace peels. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 45, n. 4, p. 1390-1393, 1997.

LEONG, J. Y.; LAM, W. H.; HO, K. W.; VOO, W. P.; LEE, M. F. X.; LIM, H. P.; CHAN, E. S. Advances in fabricating spherical alginate hydrogels with controlled particle designs by ionotropic gelation as encapsulation systems. **Particuology**, Bandar Sunway, Selangor, Malaysia, v. 24, 44–60, 2016.

LIDDER, S.; WEBB, A. J. Vascular effects of dietary nitrate (as found in green leafy vegetables and beetroot) via the nitrate-nitrite-nitric oxide pathway. **British Journal of Clinical Pharmacology**, Londres, v. 75, p. 677-696, 2013.

LOPEZ-NIEVES, S.; YANG, Y.; TIMONEDA, A.; WANG, M.; FENG, T.; SMITH, S. A.; MAEDA, H. A. Relaxation of tyrosine pathway regulation underlies the evolution of betalain pigmentation in Caryophyllales. **New Phytologist**, [s.l.], v. 217, ed. 2, 2018.

- LUPO, B.; MAESTRO, A.; GUTIÉRREZ, J. M.; GONZÁLEZ, C. Characterization of alginate beads with encapsulated cocoa extract to prepare functional food: Comparison of two gelation mechanisms. **Food Hydrocolloids**, Barcelona, v. 49, p. 25-34, 2015.
- LUPO, B.; MAESTRO, A.; PORRAS, M.; GUTIÉRREZ, J. M.; GONZÁLEZ, C. Preparation of alginate microspheres by emulsification/internal gelation to encapsulate cocoa polyphenols. **Food Hydrocolloids**, Barcelona, v. 38, 56-65, 2014.
- MAHFOUDHI, N.; HAMDÍ, S. Kinetic degradation and storage stability of β -carotene encapsulated by spray drying using almond gum and gum arabic as wall materials. **Journal of Polymer Engineering**, Tunis, Tunisia, v. 34, p. 683-693, 2014.
- MARQUES, L. F.; MEDEIROS, D. C.; COUTINHO, O. L.; MARQUES, L. F.; MEDEIROS, C. B.; VALE, L. S. Produção e qualidade da beterraba em função da adubação com esterco bovino. **Revista Brasileira de Agroecologia**, Porto Alegre, v. 5, n. 1, 2010.
- MARTINS, I. M.; BARREIRO, M. F.; COELHO, M.; RODRIGUES, A. E. Microencapsulation of essential oils with biodegradable polymeric carriers for cosmetic applications. **Chemical Engineering Journal**, Bragança, Portugal, v. 245, p. 191-200, 2014.
- MEILGAARD, M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory Evaluation Techniques**, [s.l.], 2nd Edition, CRC Press, Inc., Boca Raton, 1991.
- MELO, C. M. T.; FARIA, J. V. Composição centesimal, compostos fenólicos e atividade antioxidante em partes comestíveis não convencionais de seis olerícolas. **Bioscience Journal**, Minas Gerais, v. 30, n. 1, p. 93-100, 2014.
- MERCADO-MERCADO, G.; MONTALVO-GONZÁLEZ, E.; GONZÁLEZ-AGUILAR, G. A.; ALVAREZ-PARRILLA, E.; SAYAGO-AYERDI, S. G. Ultrasound-Assisted extraction of carotenóides from mango (*Mangifera indica* L.) by-products on in vitro bioacessibilidade. **Food Bioscience**, [s.l.], v. 21, 125-131, 2018.
- MEREDDY, R.; CHAN, A.; FANNING, K.; NIRMAL, N.; SULTANBAWA, Y. Betalain rich functional extract with reduced salts and nitrate content from red beetroot (*Beta vulgaris* L.) using membrane separation technology. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 215, p. 311-317, 2017.
- MEYNER, M.; CASTURA, J. C. **Check-All-That-Apply Questions**. In: P. Varela & G. Ares (Eds.). *Novel Techniques in Sensory Characterization and Consumer Profiling*. Boca Raton: CRC Press, Taylor & Francis Group, [s.l.], p. 272-305, 2014.
- MINOLTA. *Precise color communication: color control from perception to instrumentation*. Tokyo, p. 59, 1998.
- MIRABELLA, N.; CASTELLANI, V.; SALA, S. Current options for the valorization of food manufacturing waste: a Review. **Journal of Cleaner Production**, Milão, Itália, n. 65, p. 28-41, 2014.
- MIRAJ, S. Chemistry and pharmacological effect of beta vulgaris: A systematic review. **Der Pharmacia Lettre**, Shahrekord, Iran, v. 8, p. 404-409, 2016.

MOSER, P.; TELIS, V. R. N.; NEVES, N. D.; GARCÍA-ROMERO, E.; GÓMEZ-ALONSO, S.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I. Storage stability of phenolic compounds in powdered BRS Violeta grape juice microencapsulated with protein and maltodextrin blends. **Food Chemistry**, São Paulo, v. 214, p. 308-318, 2017.

NAZARENO, L.; MONTA, C.; OLIVEIRA, J.; GOESH, C.; LOURDES, I. C.; OLIVERA, M. Encapsulating betalains from *Opuntia ficus-indica* fruits by ionic gelation: Pigment chemical stability during storage of beads. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 202, p. 373-382, 2016.

NEMZER, B.; PIETRZKOWSKI, Z.; SPÓRNA, A.; STALICA, P.; THRESHER, W.; MICHAŁOWSKI, T.; WYBRANIEC, S. Betalainic and nutritional profiles of pigment-enriched red beet root (*Beta vulgaris* L.) dried extracts. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 127, p. 42-53, 2011.

NINFALI, P.; ANGELINO, D. Nutritional and functional potential of *Beta vulgaris* cicla and rubra. **Fitoterapia**, Urbino, Itália v. 89, p. 188-199, 2013.

NGAMWONGLUMLERT, L.; DEVAHASTIN, S.; CHIEWCHAN, N. Natural dyes: pigment stability and increase in yield from extraction using appropriate pre-treatment and extraction methods. **Critical Reviews Food Science Nutrition**, Bangkok, v. 57, p. 3243-3259, 2017.

OTÁLORA, M. C.; CARRIAZO, J. G.; ITURRIAGA, L.; NAZARENO, M. A.; OS. Microencapsulation of betalains obtained from cactus fruit (*Opuntia ficus-indica*) by spray drying using cactus cladode mucilage and maltodextrin as encapsulating agentes. **Food Chemistry**, Bogotá, Colombia, v. 187, p. 174-181, 2015.

OTÁLORA, M. C.; CARRIAZO, J. G.; ITURRIAGA, L.; OSORIO, C.; NAZARENO, M. A. Encapsulating betalains from *Opuntia ficus-indica* fruits by ionic gelation: Pigment chemical stability during storage of beads. **Food Chemistry**, Bogotá, Colombia, v. 202, p. 373-382, 2016.

OTÁLORA, M. C.; CARRIAZO, J. G.; OSORIO, C.; NAZARENO, M. A. Encapsulation of cactus (*Opuntia megacantha*) betaxanthins by ionic gelation and spray drying: A comparative study. **Food Research International**, Bogotá, Colombia, v. 111, p. 423-430, 2018.

PACIULLI, M.; MEDINA-MEZA, I. G.; CHIAVARO, E.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V. Impact of thermal processing and high pressure on beet quality parameters (*Beta vulgaris* L.). **LWT-Food Science and Technology**, [s.l.], v. 68, p. 98-104, 2016.

PAQUES, J. P.; SAGIS, L. M.; VAN RIJN, C. J.; VAN DER LINDEN, E. Nanospheres of alginate prepared through w/o emulsification and internal gelation with nanoparticles of CaCO₃. **Food Hydrocolloids**, Wageningen, Holanda, v. 40, 182-188, 2014.

PASRIJA, D.; EZHILARASI, P.; INDRANI, D.; ANANDHARAMAKRISHNAN, C. G. Microencapsulation of green tea polyphenols and its effect on incorporated bread quality. **LWT-Food Science and Technology**, Mysore, India, v. 64, n. 1, 289-296, 2015.

PATIL, J. S.; KAMALAPUR, M. V.; MARAPUR, S. C.; KADAM, D. V. Ionotropic gelation and polyelectrolyte complexation: The novel techniques to design hydrogel particulate

sustained, modulated drug delivery system: A review. **Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures, Cincinatti**, [s.l.], v. 5, n. 1, p. 241–248, 2010.

PIMENTEL, L. F.; JÚNIOR, A. T. J.; MOSQUEIRA, V. F.; MAGALHÃES, N. S. S. Nanotecnologia farmacêutica aplicada ao tratamento da malária. **Revista Brasileira Ciencia e Ffarmacia**. São Paulo, v. 43, p. 25. 2007.

PITALUA, E.; JIMENEZ, M.; BERISTAIN, C. Antioxidative activity of microcapsules with beetroot juice using gum Arabic as wall material. **Food and Bioproducts Processing**, Veracruz, Mexico, v. 88, p. 253-258, 2010.

PORTO, C. D.; PORRETTO, E.; DECORTI, D. Comparison of ultrasoun dassisted extraction with conventional extraction methods of oil and polyphenols from grape (*Vitis vinifera* L.) seeds. **Ultrason Sonochemistry**, [s.l.], 20, n. 4, p.1076–1080, 2013.

RADHAKRISHNAN, K.; SIVARAJAN, M.; BABUSKIN, S.; ARCHANA, G.; BABU, P. A. S.; SUKUMAR, M. Kinetic modeling of spice extraction from *S. aromaticum* and *C. cássia*. **Journal of Food Engineering**, Chennai, India, v. 117, p. 326–332, 2013.

RAMONEDA, X. A.; PONCE-CEVALLOS, P. A.; BUERA, M. D. P.; ELIZALDE, B. E. Degradation of β -carotene in amorphous polymer matrices. Effect of water sorption properties and physical state. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Buenos Aires, Argentina, v. 91, p. 2587-2593, 2011.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*, [s.l.], v. 26, p. 1231-1237, 1999.

RIGHI, H.; CAMILA, S.; BOLANHO, B. C. Ultrasound-assisted extraction of betalines from red beet (*Beta vulgaris* L.). **Journal of Food Engineering Process**, Umuarama, Porto Rico, v. 41, p. 1-6, 2018.

ROCHA, G. A.; FÁVARO-TRINDADE, C. S.; GROSSO, C. R. F. Microencapsulation of lycopene by spray drying: Characterization, stability and application of microcapsules. **Food and Bioproducts Processing**, Campinas, v. 90, p. 37-42, 2012.

ROCHA, L. C. R. **Desenvolvimento de micropartículas contendo suco de tomate via gelificação iônica**. 87 f. Dissertação (Mestrado em Produtos e Nanoprodutos Alimentícios) – Faculdade de Engenharia de Biomateriais, Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, 2017.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Betalains. **Encyclopedia of Food Chemistry**, [s.l.], p. 35-39, 2019.

RORIZ, C. L.; BARREIRAA, J. C. M.; MORALESB, P.; BARROSA, L.; FERREIRAA, I. C. R. *Gomphrena globosa* L. as a novel source of food-grade betacyanins: Incorporation in ice-cream and comparison with beet-root extracts and commercial betalains. **LWT - Food Science and Technology**, [s.l.], v. 92, p. 101-107, 2018.

SANTANA, D. L. **Secagem por atomização do suco de pitaya vermelha (*Hylocereus costaricensis*) cultivada na região amazônica para obtenção de corante natural em pó.** 237f. Tese (Doutorado em Engenharia de Recursos Naturais da Amazônia). Universidade Federal do Pará, Belém, Pará, 2019.

SANTOS, C.; D. TESSARO, I.; C. MARCZAK, L.; D.; F. CASSINE, A.; S. **Extração, clarificação e estabilização de betalaínas provenientes de talos de beterraba vermelha (*Beta vulgaris* L.).** 175f. Tese (Doutorado em Engenharia Química). Universidade Federal Do Rio Grande Do Sul. Porto Alegre, p.22, 2017.

SARDELLA, L. A. C. Z. **Produção, caracterização e aplicação de extrato de beterraba microencapsulado em matrizes de maltodextrina e amido modificado.** 132f. TESE (Doutorado em Engenharia e Ciência de Alimentos). Faculdade de Engenharia de alimentos da Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, São Paulo, 2016.

SATYANAND, V.; VALI, S. M.; KRISHNA, B. P. A study of beet root derived dietary nitrate efficacy on performance of runners. **Indian Journal of Basic and Applied Medical Research**, [s.l.], v. 3, p. 690-695, 2014.

SCHOUBBEN, A.; BLASI, P.; GIOVAGNOLI, S.; ROSSI, C.; RICCI, M. Development of a scalable procedure for fine calcium alginate particle preparation. **Chemical Engineering Journal**, Perugia, Italia, v. 160, n. 1, p. 363-369, 2010.

SHARMILA, G.; MUTHUKUMARAN, C.; SURIYA, E.; KEERTHANA, R. M.; KAMATCHI, M.; KUMAR, N. M.; ANBARASAN, T.; JEYANTHIC, J. Ultrasound aided extraction of yellow pigment from *Tecoma castanifolia* floral petals: Optimization by response surface method and evaluation of the antioxidant activity. **Industrial Crops and Products**, Tamilnadu, India, v. 130, P. 467-477, 2019.

SHIRSATH, S. R.; SONAWANE, S. H.; GOGATE, P. R. Intensification of extraction of natural products using ultrasonic irradiations. A review of status. **Chemical Engineering and Processing**, Pune, Índia, v. 53, p.10-23, 2012.

SIGURDSON, G. T.; TANG, M. M. P. Natural dyes: food colorings from natural sources. **Food Science and Technology**. [s.l.], v. 8, p. 261-280, 2017.

SILVA, I. P.; STRINGHETAA, P. C.; TEÓFILO, R. F.; OLIVEIRA, I. R. N. Parameter optimization for spray-drying microencapsulation of jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) peel extracts using simultaneous analysis of responses. **Journal of Food Engineering**, Barra do Bugre, Mato Grosso, v. 117, p. 538-544, 2013.

SILVA, I. P.; ANDRADE, C. J. N. E. Encapsulação de óleo de buriti para produção de alimentos funcionais. **Revista citino**, Barra do Bugre, Mato Grosso, v. 2, n. 3, p. 18–27, 2012.

SONG, J.; YANG, Q.; HUANG, W.; XIAO, Y.; LI, D.; LIU, C. Optimization of trans-lutein from pumpkin peel (*Cucurbita moschata*) by ultrasonic assisted extraction. **Food and Bioproducts Processing**, Nanjing, China, v. 107, p. 104-112, 2018.

SOUZA, K. V.; ZAMORA, P. P.; ZAWADZKI, S. F. Imobilização de ferro (II) em matriz de alginato e sua utilização na degradação de corantes têxteis por processos fenton. **Química Nova**, São Paulo, Brasil, v. 31, n. 5, p. 1145–1149, 2008.

SOUZA, V. B.; FUJITA, A.; THOMAZINI, M.; DA SILVA, E. R.; LUCON J. J. F.; GENOVESE, M. I.; FAVARO-TRINDADE, C. S. Functional properties and stability of spray-dried pigments from Bordo grape (*Vitis labrusca*) winemaking pomace. **Food Chemistry**, São Paulo, Brasil, v. 164, p. 380-386, 2014.

STINTZING, F. C.; CARLE, R. Betalains in Food: Occurrence, Stability, and Postharvest Modifications. Em C. Socaciu (Ed.), **Food colorantes: Chemical and Functional Properties**, Stuttgart, Alemanha, p. 277-299, CRC Press: Boca Raton, 2008.

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

SUAVE, E. C.; DALLAGNOL, A. P. T.; PEZZIN, D. A. K.; SILVA, M. M.; MEIER, V. S. Microencapsulation: Innovation in Different areas. **Health and Environmental Journal**, [s.l.], v. 78, p. 12–20, 2006.

SULAKHIYA, K.; PATEL, V. K.; SAXENA, R.; DASHORE, J.; SRIVASTAVA, A. K.; RATHORE, M. Effect of Beta vulgaris Linn leaves extract on anxiety and depressive-like behavior and oxidative stress in mice after acute restraint stress. **Pharmacognosy Research**, Madhya Pradesh, Índia, v. 8, p. 1, 2016.

SZEKELY, D.; ILLES, B.; STEGER-MATE, M.; MONSPART-SENYI, J. Effect of drying methods for inner parameters of red beetroot (*Beta vulgaris* L.). **Acta University Sapientiae, Alimentaria**, Budapeste, Hungria, v. 9, p. 60-68, 2016.

WIZI, J.; WANG, L.; HOU, X.; TAO, Y.; MA, B.; YANG, T. E. Extração assistida por micro-ondas de corantes naturais de casca de sorgo com diferentes solventes. **Colheitas Industriais e Produtos**, Viçosa, Minas Gerais, v. 120, p. 203-213, 2018.

WONG, Y. M.; SIOW, L. F. Effects of heat, pH, antioxidant, agitation and light on betacyanin stability using red fruit dragon fruit pulp (polyrhizus Hylocereus) juice and concentrate as models. **Journal Food Science and Technology**, Bandar Sunway, Selangor Malaysia, v.52, p. 3086-3092, 2015.

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

WYLIE, L. J.; KELLY, J.; BAILEY, S. J.; BLACKWELL, J. R.; SKIBA, P. F.; WINYARD, P. G.; JONES, A. M. Beetroot juice and exercise: Pharmacodynamic and dose-response relationship. **Journal of Applied Physiology**, [s.l.], v. 115, p. 325-336, 2013.

TACO. Tabela brasileira de composição de alimentos. 4ªed. Campinas: NEPA-UNICAMP, 2011.

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

TIVELLI, S. W.; FACTOR, T. L.; TERAMOTO, J. R. S.; FABRI, E. G.; MORAES, A. R. A.; TRANI, P. E.; MAY, A. Beterraba: do plantio à comercialização. Série Tecnologia APTA. Boletim Técnico IAC, 210. Campinas: Instituto Agrônômico, 2011.

TOLEDO, M. C.F.; GUERCHON, M. S. Artificial food colorings. **Food Science and Technology**, [s.l.], v. 10, n 1, p.120-136, 1990.

TONON, R. V.; BRABET, C.; HUBINGER, M. D. Influência da temperatura do ar de secagem e da concentração de agente carreador sobre as propriedades físico-químicas do suco de açaí em pó. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 29, ed. 2, p. 444-450, 2009.

VASCONCELLOS, J.; CONTE-JUNIOR, C.; SILVA, D.; PIERUCCI, A. P.; PASCHOALIN, V.; ALVARES, T. S. Comparison of total antioxidant potential, and total phenolic, nitrate, sugar, and organic acid contents in beetroot juice, chips, powder, and cooked beetroot. **Food Science and Biotechnology**, Rio de Janeiro, v. 25, p. 79-84, 2016.

VILAS BOAS, E. V. B. Qualidade de alimentos vegetais. Lavras: UFLA/FAEPE, 2006.
XIAO, Z.; LIU, W.; ZHU, G.; ZHOU, R. N. Y. A review of the preparation and application of flavour and essential oils microcapsules based on complex coacervation technology. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Minas Gerais, v. 94, p. 1482–1494, 2014.

YAMASHITA, C.; CHUNG, M. M. S.; DOS SANTOS, C.; MAYER, C. R. M.; MORAES, I. C. F.; BRANCO, I. G. Microencapsulation of an anthocyanin-rich blackberry (*Rubus spp.*) byproduct extract by freeze-drying. **LWT-Food Science and Technology**, São Paulo, v. 84, p. 256-262, 2017.

ZAGHDOUDI, K.; PONTVIANNE, S.; FRAMBOISIER, X.; ACHARD, M.; KUDAIBERGENOVA, R.; AYADI-TRABELSI, M.; KALTHOUM-CHERIF, J.; VANDERESSE, R.; FROCHOT, C.; GUIAVARC'H, Y. Accelerated solvent extraction of carotenoids from: Tunisian Kaki (*Diospyros kaki* L.), peach (*Prunus persica* L.) and apricot (*Prunus armeniaca* L.). **Food Chemistry**, Nancy, France, v. 184, p. 131 – 139, 2015.

ZARDO, I. **Extração e microencapsulação de compostos antociânicos do bagaço de mirtilo (*Vaccinium corymbosum* L.)**. 118f. DISSERTAÇÃO (Mestrado em Fenômenos de Transporte). Faculdade de Engenharia Química. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2014.

ZIA, K. M.; ZIA, F; ZUBER, M.; REHMAN, S.; AHMAD, M.N. Alginate based polyurethanes: A review of recent advances and perspective. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s.l.], v. 79, p. 377–387, 2015.