



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
ESCOLA DE ENGENHARIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
ENG07053 - TRABALHO DE DIPLOMAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA



INFLUÊNCIA DO HTST NA ESTABILIDADE DE BETALAÍNAS PROVENIENTES DO BULBO DA BETERRABA VERMELHA

Andressa de Espíndola Sobczyk

Porto Alegre

2018

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
ESCOLA DE ENGENHARIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
ENG07053 - TRABALHO DE DIPLOMAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

**INFLUÊNCIA DO HTST NA ESTABILIDADE DE BETALAÍNAS
PROVENIENTES DO BULBO DA BETERRABA VERMELHA**

Trabalho de conclusão de curso apresentado como requisito para a
obtenção do título de Bacharela em Engenharia Química

Andressa de Espíndola Sobczyk

Orientadora:

Prof.^a Dr.^a Aline Schilling Cassini

Coorientadora:

Dr.^a Cláudia Destro do Santos

Porto Alegre

2018

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, a Deus, por ser maravilhoso e presente em todos os momentos, por me dar a provisão necessária para seguir em frente e buscar meus objetivos

À minha família, pela qual tenho amor incondicional. Por me dar o apoio, a força e o carinho que me mantêm firme, bem como pela compreensão e pelo colo nos momentos difíceis. À minha avó Carmita Espíndola, pelas xícaras de chá durante as madrugadas de estudo, pelo abraço com poder calmante, pelo mais doce cuidado, por seu amor infinito, por ser minha inspiração, meu grande e brilhante raio de sol até nos dias nublados. Ao meu pai Mário Sobczyk, por me ajudar a transpassar os obstáculos e achar graça dos problemas, por ser o meu exemplo.

Ao meu namorado, Béuren Bechlin, por ser meu grande incentivador, por me fazer ser uma pessoa melhor a cada dia, pela paciência, por segurar a minha mão em todos os momentos e por estampar um sorriso permanente em meu rosto.

Aos meus amigos, por compartilharem comigo essa incrível jornada chamada vida, nos seus momentos bons e ruins. Especialmente aos meus amados amigos Lucas Schindel e Sabryna Raquel Rotermond, por me darem seu constante apoio, pelas infinitas xícaras de café, pelas noites de estudo, pelas risadas, por tornarem os dias mais leves e felizes, por serem exatamente do jeito que são.

Às minhas queridas orientadora e coorientadora, Aline Schilling Cassini e Cláudia Destro dos Santos, pelos ensinamentos e pelo suporte, pelas críticas construtivas e palavras de encorajamento.

RESUMO

A cor é um indicador de qualidade importante que influencia na aceitação dos alimentos pelo consumidor. Para obter a coloração desejada, as indústrias alimentícias aplicam corantes, naturais ou sintéticos, em seus produtos. Em função dos benefícios oferecidos à saúde, a preferência das pessoas por pigmentos naturais tem crescido, voltando a atenção da indústria para esse tipo de compostos. Dentre as opções de corantes produzidos pela natureza estão as betalaínas, pigmento com elevado poder tintorial e presente em grande quantidade na beterraba vermelha, principal fonte de obtenção desse corante. Um dos maiores desafios para a ampliação da utilização das betalaínas é a sua baixa estabilidade, fato que limita a sua aplicação na indústria de alimentos. Tendo em vista estes fatores, o presente trabalho tem como objetivo principal estudar a aplicação do tratamento térmico HTST (do inglês, *High Temperature Short Time*) para a estabilização de betalaínas provenientes do bulbo da beterraba vermelha. Para tanto, foram estudados os perfis de aquecimento (em função da concentração da amostra e da temperatura de tratamento) de extratos obtidos a partir de esmagamento dos bulbos, bem como o comportamento da concentração do pigmento ao longo do tempo de extratos tratados e não tratados. Os perfis de aquecimento das amostras se mostraram dependentes da temperatura de tratamento, porém, independentes da concentração de pigmento. A aplicação do tratamento térmico HTST, durante 120 segundos com temperatura aproximada de 96 °C, provocou degradação do pigmento, sendo bastante agressivo para extratos de menor concentração. Contudo, esse processamento levou a uma redução de 6 e 11 vezes na taxa de degradação de amostras com menor e maior concentração inicial de betalaínas, respectivamente, melhorando a estabilidade do pigmento. Além disso, em todas as condições de concentração estudadas, foi observado um aumento da concentração do pigmento nos extratos tratados no segundo dia de armazenamento, indicativo de regeneração, porém, a análise estatística de todos os dados de teor de betalaínas (controle e tratado) para amostras de maior concentração não apresentou diferença significativa entre as concentrações do primeiro e segundo dia de armazenamento.

Palavras chave: beterraba; bulbo; betalaínas; estabilidade; HTST; extração; regeneração; tratamento térmico.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Partes da beterraba separadas em folhas, talos e bulbo	3
Figura 2: Estruturas químicas do ácido betalâmico, betacianinas e betaxantinas, com possibilidades de substituição dos radicais	6
Figura 3: Fluxograma de extração e processamento por HTST do extrato de betalaínas proveniente do bulbo da beterraba vermelha	18
Figura 4: Perfis de aquecimento dos extratos com concentração de $74,5 \pm 4,6$ mg de betanina/100mL de extrato em função da temperatura	22
Figura 5: Perfis de aquecimento dos extratos em função da concentração, tratados a uma temperatura de $94\text{ }^{\circ}\text{C}$	23
Figura 6: Concentrações de Betalaínas em amostras com menor concentração inicial ($24,2 \pm 0,2$ mg de betanina/100 mL de extrato) tratadas termicamente com HTST e em amostras controle (não tratadas) ao longo de 10 dias de armazenamento.....	25
Figura 7: Concentrações de Betalaínas em amostras com maior concentração inicial ($38,9 \pm 0,1$ mg de betanina/100 mL de extrato) tratadas termicamente com HTST e em amostras controle (não tratadas) ao longo de 10 dias de armazenamento.....	26

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Aumento na Concentração de betalaínas e concentração das amostras tratadas com baixa concentração inicial e com alta concentração inicial de pigmento no 1º e 2º dia de armazenamento..... 28

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1. Objetivo	2
1.2. Objetivos específicos	2
2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1. Beterraba.....	3
2.2. Betalaínas.....	5
2.2.1 Estabilidade de Betalaínas.....	7
2.2.2 Degradação do pigmento.....	9
2.2.3 Regeneração do pigmento	10
2.3. Extração	11
2.4. Tratamento Térmico: HTST (<i>High Temperature Short Time</i>)	11
3. MATERIAIS E MÉTODOS	14
3.1. Matéria Prima	14
3.2. Extração	14
3.3. Perfis de Aquecimento.....	15
3.3.1 Preparo das Amostras.....	15
3.3.2 Perfil de Aquecimento em função da Temperatura.....	15
3.3.3 Perfil de Aquecimento em função da Concentração	16
3.4. Tratamento Térmico a Altas Temperaturas em Curto Tempo (HTST).....	16
3.4.1 Preparo das amostras	17
3.4.2 Efeitos do tratamento sobre a concentração e estabilidade das betalaínas de extratos do bulbo da beterraba vermelha	17
3.5. Análises da qualidade dos extratos	19
3.5.1 Determinação do Teor de Betalaínas	19
3.5.2 Análise estatística	19
3.5.3 Taxa de degradação do pigmento.....	19
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	21
4.1. Perfis de Aquecimento.....	21
4.1.1 Perfil de Aquecimento em função da Temperatura.....	21
4.1.2 Perfil de Aquecimento em função da Concentração	22
4.2. Tratamento Térmico a Altas Temperaturas em Curto Tempo (HTST).....	23

4.2.1	Efeitos do tratamento sobre a estabilidade das betalaínas de extratos do bulbo da beterraba vermelha.....	24
4.2.2	Regeneração do pigmento	28
5.	CONCLUSÕES	30
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	32

1. INTRODUÇÃO

A cor é um dos atributos mais importantes dos alimentos, sendo considerada um indicador de qualidade e determinante na aceitação do produto pelo consumidor. Muitos alimentos necessitam da aplicação de corantes para que se alcance a pigmentação desejada, logo, os pigmentos, sejam eles sintéticos ou naturais, são de suma importância na indústria alimentícia.

Os pigmentos naturais apresentam algumas desvantagens em comparação aos sintéticos, como, por exemplo, o maior custo e sua menor estabilidade. Porém, as pessoas têm evitado cada vez mais os corantes sintéticos devido a uma crescente procura por alimentos mais saudáveis e mais naturais, fazendo com que a utilização de corantes naturais ganhe a atenção da indústria.

Dentre as possibilidades de pigmentos produzidos pela natureza e que podem ser utilizados para a coloração de alimentos, as betalaínas ganham destaque por seu elevado poder tintorial, além da sua atividade antioxidante que é extremamente benéfica para a saúde humana. A principal fonte desses corantes é a beterraba vermelha, sendo as betalaínas responsáveis pela coloração característica vermelho-violeta dessa hortaliça, e seu extrato rico no corante de interesse. Um fator limitante para a utilização desse pigmento é a sua baixa estabilidade, havendo grande tendência à degradação desde o momento em que é extraído.

A estabilidade das betalaínas é afetada por fatores endógenos, como a ação de enzimas, além de fatores externos como a temperatura, luz, pH e oxigênio. Visando ampliar a utilização desse pigmento na indústria alimentícia, se faz necessária a melhoria de sua estabilidade. Para tanto, a observação das condições de extração do pigmento, bem como a utilização de um processamento adequado à redução da atividade das enzimas ou, até mesmo, à inativação destas, (as quais prejudicam a estabilidade dos compostos de interesse), se fazem necessárias para a redução da exposição a fatores que aceleram a degradação das betalaínas.

O tratamento térmico é um processamento amplamente utilizado na indústria alimentícia por promover, entre outras coisas, a esterilização dos alimentos, evitando/minimizando a presença de patógenos e o crescimento bacteriano, bem como por levar à inativação de enzimas que interferem na qualidade do produto. As betalaínas são compostos termossensíveis e sua degradação pode ser acelerada pelo aumento da temperatura. Tempos longos de exposição ao calor podem levar a uma perda muito grande de pigmento, impossibilitando sua utilização. Porém, o tratamento térmico a altas temperaturas e em curto período de tempo, o HTST (do inglês, *High Temperature Short Time*), é uma alternativa para

o processamento de betalaínas, pois promove a minimização de patógenos no extrato que contém o pigmento e a inativação das enzimas, com reduzido impacto sobre os compostos de interesse.

Mesmo podendo ser uma boa alternativa para o processamento dos extratos provenientes do bulbo da beterraba vermelha, o tratamento térmico HTST pode ocasionar degradação do pigmento por exposição ao calor. Contudo, o tipo de reação de degradação decorrente de elevadas temperaturas apresenta reversibilidade, sendo esse fenômeno chamado de regeneração do pigmento. Essa regeneração é observada, principalmente após aplicação de curtos períodos de tratamento, mantendo-se condições de armazenamento adequadas após a exposição ao calor, reduzindo a degradação aparente do pigmento e promovendo um aumento na concentração final de betalaínas.

Tendo em vista os benefícios da ampliação da utilização de betalaínas como corante natural na indústria alimentícia, o presente trabalho de conclusão de curso contempla o estudo da aplicação do tratamento térmico HTST nos extratos do bulbo da beterraba vermelha e o efeito desse tratamento na estabilidade do pigmento.

1.1. Objetivo

O objetivo geral deste trabalho é estudar a aplicação do tratamento térmico HTST (do inglês, *High Temperature Short Time*) na estabilização da betalaína contida no bulbo da beterraba vermelha, visando ampliar a utilização desse pigmento como corante natural na indústria alimentícia.

1.2. Objetivos específicos

Para que se possa alcançar o objetivo geral, os seguintes objetivos específicos são propostos:

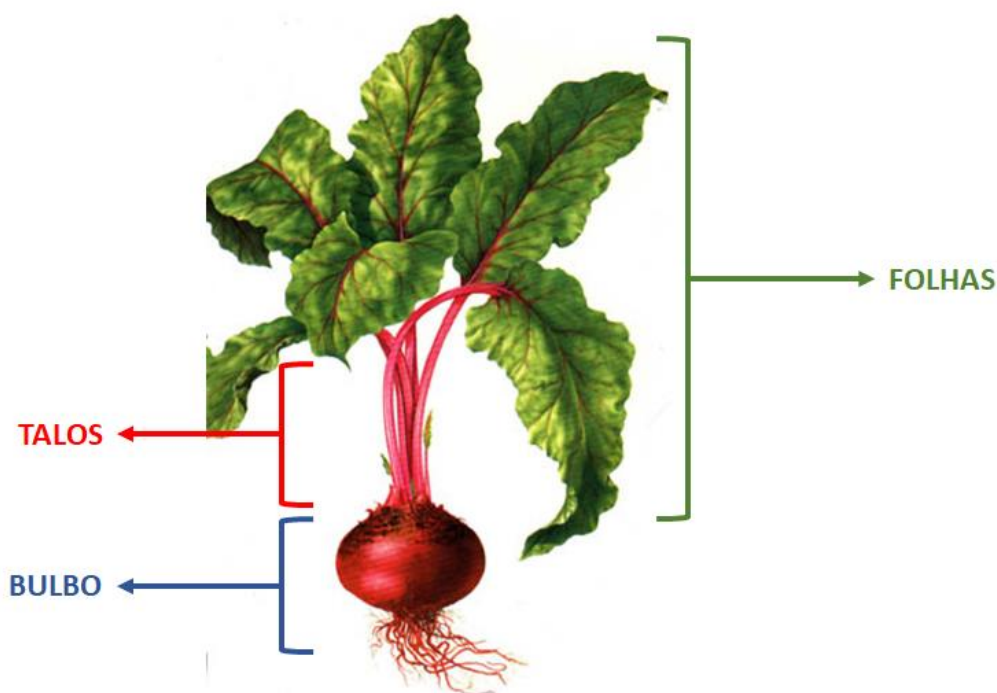
- avaliar a influência da temperatura nos perfis de aquecimento do extrato obtido a partir do bulbo da beterraba vermelha;
- estudar a influência da concentração de betalaína nos perfis de aquecimento do extrato obtido a partir do bulbo da beterraba vermelha;
- avaliar a regeneração do pigmento quando o tratamento térmico utilizado é o HTST em diferentes concentrações de betalaínas.

2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Este capítulo tem por objetivo apresentar os fundamentos teóricos e uma revisão das informações presentes na literatura sobre o tema estudado neste trabalho, sendo essas informações importantes para uma melhor compreensão dos objetos envolvidos no presente estudo. Serão abordados, neste capítulo, tópicos referentes à extração e estabilização de um extrato rico em betalaínas, bem como a fonte e as características desse pigmento.

2.1. Beterraba

De acordo com Tivelli *et al.* (2011), a beterraba é uma das principais culturas de hortaliças no Brasil, sendo três dos seus biótipos (beterraba açucareira, forrageira e hortícula) de significativa importância econômica. O biótipo cultivado no Brasil é a hortícula, a beterraba vermelha (ou de mesa), cujos bulbos são utilizados na alimentação humana. A composição centesimal do bulbo da beterraba vermelha (em base úmida) é 11,1 g de carboidratos, 3,4 g de fibra alimentar, 1,9 g de proteínas, 0,1 g de lipídios, 0,9 g de cinzas e 86 % umidade (TACO, 2011). A beterraba se divide em bulbo, talos e folhas, sendo as diferentes partes dessa hortaliça apresentadas na Figura 1.



Fonte: adaptado de < <http://bionoticias.blogspot.com/2006/01/> >

Figura 1: Partes da beterraba separadas em folhas, talos e bulbo

A beterraba vermelha (*Beta vulgaris L.*) é um produto largamente utilizado em trabalhos científicos por apresentar em sua composição elevados níveis de antioxidantes, contendo, também, outros compostos importantes para a saúde humana, tais quais vitamina B6, fibras solúveis, ácido fólico, ferro, zinco, cálcio, fósforo, sódio, niacina, biotina, potássio e magnésio (SANTOS, 2017). Além dessas substâncias, essa raiz contém pequenas quantidades de carotenoides e ácido ascórbico que podem aumentar a sua capacidade antioxidante (WOOTON-BEARD; RYAN, 2011;).

O consumo regular dessa hortaliça pode ajudar na prevenção de determinadas doenças, como por exemplo, alguns tipos de câncer, apresentando o suco dessa leguminosa um efeito benéfico à saúde humana. Tanto o bulbo quanto a parte aérea da beterraba (folhas e talos) podem ser aproveitados na alimentação, sendo a parte aérea altamente nutritiva (TIVELLI *et al.*, 2011; WOOTON-BEARD; RYAN, 2011).

Ao longo da década de 2000, foi observado um crescimento no consumo *in natura* de beterrabas, bem como na sua utilização na indústria de alimentos para a produção de alimentos infantis, corantes (utilizados em iogurtes, sopas desidratadas e ketchups) e conservas (TIVELLI *et al.*, 2011).

Segundo Stintzing e Carle (2008a), os extratos dessa raiz apresentam propriedades adversas como um elevado teor de nitratos, bem como o seu odor desagradável devido a derivados de pirazina e geosmina. Em contraponto, apresenta muitos benefícios devido a sua composição altamente nutricional e devido à presença de corantes naturais, sendo uma das fontes mais ricas de betalaínas, que podem ser utilizadas para pigmentar alimentos (NAYAK *et al.*, 2006).

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

A cor vermelho-arroxeadada característica da beterraba se deve à presença de elevada concentração de betalaínas em sua composição (TIVELLI *et al.*, 2011 ; RAVICHANDRAN

et al., 2013), sendo as características e particularidades dessa substância apresentadas no item a seguir.

2.2. Betalaínas

Pigmentos são substâncias que produzem cores e estão presentes em todos os organismos, podendo ser encontrados em frutos, vegetais, flores, fungos, bem como podem ser substâncias sintéticas (SCHIOZER; BARATA, 2007).

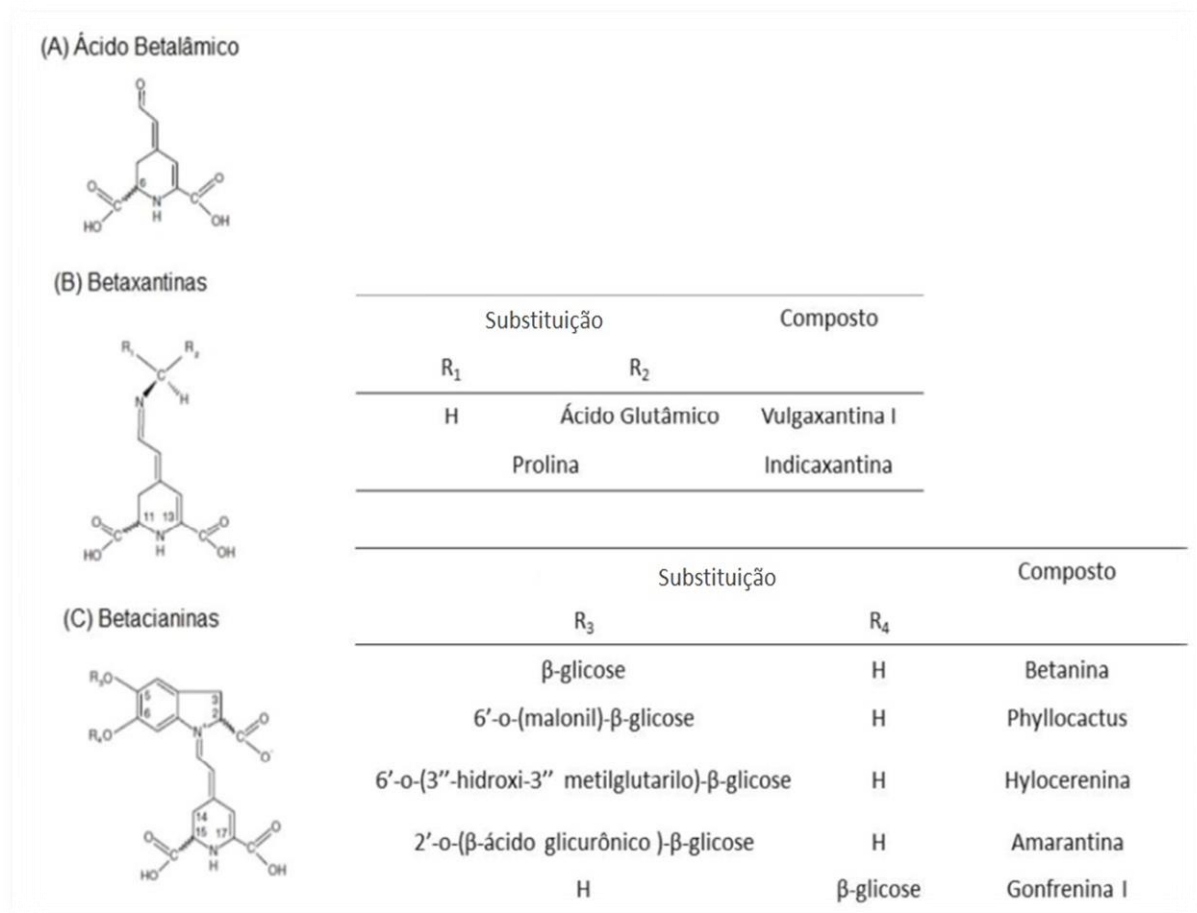
As betalaínas são pigmentos naturais nitrogenados e hidrossolúveis, que são sintetizados a partir do aminoácido tirosina e são amplamente utilizados como corante na indústria alimentícia. Esses pigmentos estão presentes somente nas plantas da ordem *Caryophyllales* (JACKMAN; SMITH, 1996; ESCRIBANO *et 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 (AZEREDO, 2009). 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*.

Além das propriedades colorantes, as betalaínas possuem uma vasta gama de atividades biológicas desejáveis, tais como atividades antioxidantes, anti-inflamatórias, bem como propriedades hepatoprotetoras e anticancerígenas (AZEREDO, 2009; 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).

De acordo com Stintzing e Carle (2008a) e Strack, Vogt e Schliemann (2003), as betalaínas podem ser encontradas em vegetais como beterraba vermelha, amaranto, acelga, pitaita e pera de cactus. Dentre as fontes de pigmento citadas, a principal é a beterraba vermelha, que contém quantidades apreciáveis de betanina, a betalaína majoritária na beterraba, variando de 75 a 95 % das betacianinas presentes nesse vegetal (HAVLÍKOVÁ; MÍKOVÁ; KYZLINK, 1983; CZAPSKI, 1990; CAI; SUN; CORKE., 2005). No estudo realizado por Gasztonyi *et al.* (2001), foram analisadas cinco variedades de beterraba em termos de sua composição de pigmento. Em todos os casos, as principais betacianinas

encontradas foram a betanina, isobetanina, betanidina e isobetanidina; as principais betaxantinas encontradas foram a vulgaxantina I e vulgaxantina II.

Na Figura 2, são representadas as estruturas do ácido betalâmico, das diferentes classes de betalaínas, bem como exemplos de compostos formados a partir de diferentes substituições para os radicais das estruturas, incluindo betanina e vulgaxantina I e II.



Fonte: adaptado de Herbach, Stintzing e Carle (2006).

Figura 2: Estruturas químicas do ácido betalâmico, betacianinas e betaxantinas, com possibilidades de substituição dos radicais

A natureza produz uma variedade de compostos adequados para aplicação como corante alimentar, como as antocianinas, betalaínas, carotenóides e clorofilas (AZEREDO, 2009). No que tange à coloração, as betalaínas apresentam vantagens em relação a corantes naturais já consolidados, como as antocianinas, pois apresentam uma força tintorial até três vezes maior que esses outros pigmentos, podendo, uma quantidade inferior a 50 mg de betanina/ kg, produzir a cor desejada no alimento para a maioria de suas aplicações como

corante alimentício (DELGADO-VARGAS; JIMÉNEZ; PAREDES-LÓPEZ, 2000; STINTZING; CARLE, 2007).

A cor é um atributo muito importante nos alimentos e é uma característica sensorial essencial para a aceitação do consumidor (MANCHALI *et al.*, 2013). Segundo Nayak *et al.* (2006), problemas com a segurança de aplicação de corantes artificiais estimularam a pesquisa sobre pigmentos naturais alternativos. Pigmentos sintéticos podem deixar resíduos tóxicos e, conseqüentemente, podem não ser apropriados para uso em processamentos de alimentos. Por esses motivos, a coloração alimentar com corantes artificiais tem sido cada vez mais desaprovada pelos consumidores e, em contrapartida, a aplicação de pigmentos naturais, dentre eles as betalaínas, vem ganhando grande importância para a indústria alimentícia (HERBACH; STINTZING; CARLE, 2006).

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, uma das adversidades na utilização de seus extratos em alimentos, como produtos lácteos, é um sabor de terra causado pela geosmina e algumas pirazinas presentes nessas hortaliças, sendo necessário um tratamento para reduzir esse efeito indesejável (LU *et al.*, 2003; STINTZING; CARLE, 2004; SANTOS, 2017). Outro problema que se enfrenta na aplicação de betalaínas como corante é a sua limitação de estabilidade durante o processamento e armazenamento do alimento. Esses pigmentos podem ser utilizados eficazmente em alimentos congelados ou mantidos a baixas temperaturas e em produtos com vida útil curta, como iogurtes, pudins, sorvetes e salsichas, mas seu espectro de aplicações é bastante limitado devido à sua baixa estabilidade (GÜNEŞER, 2016; KAHN, 2016; MARTINS *et al.*, 2017).

2.2.1 Estabilidade de 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 como β -glicosidases, polifenoloxidasas (PPOs), bem como peroxidases (PODs) e, embora as betalaínas apresentem estabilidade em uma ampla faixa de pH (variando de 3 a 7), condições de pH além dessa faixa podem levar à aceleração da degradação do pigmento (STINTZING; CARLE, 2004; HERBACH; STINTZING; CARLE, 2006; SANTOS, 2017).

Azeredo (2009) afirma que a temperatura é o fator mais importante em relação à estabilidade durante o processamento e armazenamento de alimentos. Por este motivo, muitos trabalhos foram dedicados a estudar a degradação térmica das betalaínas e a estabilidade desses pigmentos, sendo relatada uma maior estabilidade de betacianinas em relação a betaxantinas à temperatura ambiente (SAPERS; HORNSTEIN, 1979).

No estudo conduzido por Saguy, Kopelman e Mizrahi (1978), soluções ricas em betalaína foram submetidas a aquecimento por diferentes intervalos de tempo, sendo observado um aumento na degradação do pigmento, bem como na produção de ácido betalâmico e substâncias marrons, com o aumento da temperatura. O comportamento da concentração do pigmento em relação ao tempo na degradação térmica caracteriza uma cinética de reação de primeira ordem (VON ELBE; MAING; AMUNDSON, 1974; SAGUY, 1979; HERBACH; STINTZING; CARLE, 2004). Barrera, Reynosco e Mejía (1998) também estudaram a estabilidade das betalaínas com a temperatura, concluindo, da mesma forma, que um aumento na temperatura ocasiona em um aumento na degradação do pigmento.

O oxigênio desempenha um papel crítico na degradação, principalmente na presença de luz e acima da temperatura ambiente (ATTOE; VON ELBE, 1985). No estudo realizado por Cai, Sun e Corke (1998), tanto extratos de betalaínas oriundos de beterraba, quanto extratos oriundos de amaranto apresentaram melhor estabilidade em temperaturas mais baixas, na ausência de luz e de ar, em uma faixa de pH de 5 a 7, sendo a maior estabilidade em pH 5,6.

A exposição à luz também é um dos fatores que afetam a estabilidade do pigmento. Estudos demonstraram uma relação inversa entre a estabilidade e a intensidade da luz, sendo a degradação dependente da presença de oxigênio, pois os efeitos da exposição à claridade foram negligenciáveis em condições anaeróbias (ATTOE; VON ELBE, 1981; HUANG; VON ELBE, 1986).

Além disso, fatores endógenos, como as enzimas, favorecem a degradação de betalaínas. A beterraba vermelha é rica em POD e betacianinas são mais susceptíveis à degradação enzimática do que as betaxantinas (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2008).

Tendo em vista todos esses fatores, ter conhecimento das condições de processamento (temperatura, tempo, exposição ao ar e à luz) e das possibilidades de modificação dessas condições para que se possa controlar o processo é de extrema importância para a manutenção

do pigmento e redução de sua degradação durante o processamento e armazenamento (HERBACH; STINTZING; CARLE, 2006; SANTOS, 2017).

2.2.2 Degradação do pigmento

De acordo com o descrito anteriormente, o processamento do alimento pode levar à degradação das betalaínas e, em regra, a degradação está associada a uma perda da cor característica e o surgimento de uma coloração marrom devido à polimerização subsequente. Na literatura, são descritas algumas reações que ocorrem com os pigmentos e causam sua degradação, sendo as reações mais comuns a isomerização, a glicólise e a hidrólise (STINTZING; CARLE, 2007; SANTOS, 2017).

Schiozer e Barata (2007) demonstraram que a betanina pura degrada em uma velocidade maior quando comparada a extratos, por exemplo, de beterraba, sugerindo um efeito protetor dos outros substituintes no sistema natural (polifenóis, antioxidantes, entre outros).

Em geral, betacianinas são acompanhadas pelos seu respectivos isômeros, sendo a proporção betanina/isobetanina dependente da fonte e do processamento. A isobetanina apresenta coloração idêntica à betanina, podendo a isomerização ser considerada uma modificação estrutural e não uma degradação do pigmento, visto que não afeta sua utilização como corante (HERBACH; STINTZING; CARLE, 2006).

Em condições de processamento de elevadas temperaturas ou meio excessivamente ácidos e na presença de β -glicosidases pode ocasionar a degradação por glicólise, na qual a ligação da betanina com a glicose é quebrada, resultando em um deslocamento batocrômico (JACKMAN; SMITH, 1996; HERBACH; 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 (HERBACH; STINTZING; CARLE, 2006). Herbach, Stintzing e Carle (2005) monitoraram a degradação térmica de betaninas, sendo a hidrólise o principal mecanismo observado, em concordância com o que fora descrito anteriormente.

Uma particularidade da reação de hidrólise é a reversibilidade da clivagem da ligação aldimina, fenômeno denominado regeneração (HERBACH; STINTZING; CARLE, 2006) e que será discutido em detalhes a seguir.

2.2.3 Regeneração do pigmento

As betalaínas sofrem degradação em elevadas temperaturas, durante tratamentos térmicos, reduzindo o seu poder tintorial. Porém, em um período de até 24 (HUANG; VON ELBE, 1985) e/ou 48 horas, podem ser restauradas a partir dos seus produtos de hidrólise (ácido betalâmico e ciclodopa-5-O-glicosídeo, no caso das betaninas), configurando a regeneração do pigmento (CZAPSKI, 1990). A regeneração pode ser definida como uma ressíntese parcial a partir do produtos de hidrólise, que é favorecida por baixos níveis de oxigênio e dependente da concentração inicial de pigmento e da temperatura de armazenamento após o tratamento térmico (HUANG; VON ELBE, 1985).

Huang e Von Elbe (1987) estudaram a dependência da regeneração em relação ao pH na presença e na ausência de oxigênio. A regeneração se mostrou dependente do pH e da presença dos produtos de hidrólise, isto é, para maiores concentrações de ácido betalâmico e ciclodopa-5-O-glicosídeo, maior foi a regeneração obtida. O ácido betalâmico apresentou maior estabilidade em pH mais alto, enquanto o ciclodopa-5-O-glicosídeo se mostrou mais estável em pH mais baixo. Uma vez que a regeneração depende de ambos os compostos, a maior porcentagem de regeneração foi observada em pH 6. Além disso, a presença de oxigênio influencia muito na regeneração. Para todos os testes realizados pelos autores, a regeneração em condições aeróbias foi muito menor do que em condições anaeróbias.

A regeneração de betaninas (betacianina predominante na beterraba vermelha) pode ser prejudicada pela presença de amino compostos que competem com o ciclodopa-5-O-glicosídeo, substituinte que caracteriza a betanina, pelo ácido betalâmico (cromóforo comum a todas betalaínas), podendo formar outros compostos. Dessa forma, soluções de betanina tratadas termicamente podem apresentar a formação de betaxantinas, resultando em um padrão de pigmento modificado, levando a um deslocamento da coloração para o amarelo e reduzindo a regeneração de betanina (CZAPSKI, 1990; HERBACH; STINTZING; CARLE, 2006).

2.3.Extração

Muitos métodos de extração são aplicados para a produção de alimentos, como extração sólido-líquido, aplicação de tecnologias não térmicas, tecnologias que utilizam o campo elétrico e aplicação de esmagamento (LOGINOVA; LEBOVKA; VOROBIEV, 2011; GONÇALVES *et al.*, 2012; BRIONES-LABARCA *et al.*, 2015; SANTOS, 2017).

De acordo com Santos (2017), a extração sólido-líquido é um dos métodos mais aplicados na extração de pigmentos naturais, que consiste na imersão de um sólido em meio líquido (aquoso ou orgânico) para transferir componentes do sólido para o líquido, sendo o etanol o solvente comumente utilizado nesse tipo de metodologia.

As betalaínas são extremamente propensas à degradação, sendo sua estabilidade reduzida durante seu processamento na presença de luz, oxigênio, pHs extremos e calor. Dentre os métodos citados e aplicáveis na indústria, o esmagamento é um dos poucos que não leva à exposição a elevadas temperaturas nem ao uso de solventes orgânicos (SANTOS, 2017).

Gonçalves *et al.* (2012) utilizaram uma centrífuga de alimentos para realizar a extração por esmagamento em bulbos de beterraba vermelha. Os autores observaram que este equipamento permitiu a obtenção de amostras homogêneas.

2.4.Tratamento Térmico: HTST (*High Temperature Short Time*)

Tratamentos térmicos são comumente aplicados para processamento de alimentos devido à sua capacidade de matar patógenos e inativar enzimas potencialmente prejudiciais à qualidade do alimento, bem como estender sua vida útil (GIRIBALDI *et al.*, 2016; MOUSSA-AYOUB *et al.*, 2016).

A estabilidade de betalaínas é afetada, dentre outros fatores, devido à ação de enzimas como as PODs, que estão presentes em grande quantidade na beterraba vermelha. Para que se tenha uma melhor estabilidade, se faz necessária a inativação dessas enzimas, sendo essa inativação alcançada somente pela aplicação de calor (STINTZING; CARLE, 2008a). Em seu estudo, Rudrappa *et al.* (2005) constatou a inativação completa de PODs a 70 °C durante 40 minutos, demonstrando a efetividade da utilização de tratamento térmico para esta finalidade.

Além da inativação enzimática, tratamentos térmicos são também utilizados para a redução parcial dos efeitos da geosmina nas características sensoriais dos produtos à base de beterraba. Porém, a temperatura é um dos fatores que causam a degradação das betalaínas,

sendo observadas perdas de cor a partir de temperaturas superiores a 30 °C (STINTZING; CARLE, 2008a; SANTOS, 2017). Saguy (1979) observou o aumento na degradação de betalaínas, com o aumento da temperatura, através da redução do tempo de meia-vida. Para uma elevação de temperatura de 61,5 °C à 75,5 °C, houve uma redução de aproximadamente 69 % no tempo de meia-vida do pigmento. Logo, é de suma importância a adequação das condições de temperatura e tempo de processamento do tratamento térmico visando à diminuição de danos ao pigmento presente no extrato.

O tratamento térmico, especialmente em condições severas, pode dar origem a alterações químicas e físicas que podem prejudicar as propriedades organolépticas e reduzir a biodisponibilidade de alguns nutrientes no alimento (ARSLANOGLU *et al.*, 2013). Uma alternativa para minimizar estas alterações de qualidade indesejáveis durante o processamento térmico é a utilização do tratamento térmico aplicado a altas temperaturas em curto período de tempo, o HTST. Esse tipo de processamento produz a maior destruição microbológica com a menor perda de qualidade do alimento (BLASCO *et al.*, 2004; SANTOS, 2017).

No estudo conduzido por Huang *et al.* (2013), o HTST foi aplicado durante 8,6 segundos e a 110 °C em néctares de damasco, sendo investigado o comportamento de enzimas, fenóis, carotenoides e cor dos extratos. O tratamento induziu a uma completa inativação das enzimas e, em comparação ao néctar não tratado, resultou em um aumento significativo de compostos fenólicos totais, produziu grande diferença de cor, bem como não demonstrou nenhum efeito sobre o total de carotenóides e carotenos individuais, exceto o α -caroteno, sendo os micronutrientes e fitoquímicos do néctar bem preservados.

Giribaldí *et al.* (2016) compararam a qualidade bioquímica do leite humano após pasteurização pelo método convencional e pasteurização utilizando o HTST. Nenhum patógeno ou crescimento bacteriano foi detectado após a aplicação do tratamento térmico a altas temperaturas em curto período de tempo e a qualidade bioquímica final do leite foi melhor utilizando-se o substituto à pasteurização convencional.

O tratamento térmico HTST é também uma opção de processamento quando os compostos de interesse são termossensíveis, contudo, se faz necessário o conhecimento da degradação desses compostos devido à exposição a altas temperaturas (SANTOS, 2017). A literatura apresenta alguns estudos relacionados a este assunto, como o realizado por Blasco *et al.* (2004), que aplicaram o HTST para tratar ácido ascórbico (composto termossensível) em cogumelos, analisando a cinética de degradação dessa substância.

O HTST apresenta algumas desvantagens, tais quais a aplicação em alimentos sólidos ou de elevada viscosidade, o que pode levar ao superaquecimento da superfície devido à necessidade de tempo para a transferência de calor para a parte interna do alimento, gerando perdas de qualidade (OHLSSON; BENGTTSSON, 2002).

Na literatura, não foram encontrados muitos trabalhos que avaliaram a influência aplicação do HTST na estabilidade de betalaínas. Santos *et al.* (2018) estudaram os efeitos da aplicação do tratamento térmico HTST em extratos dos talos da beterraba vermelha, avaliando seus efeitos na estabilidade do pigmento. Para um tratamento realizado a uma temperatura efetiva de 85,7 °C e durante 120 segundos, os autores verificaram uma melhora na estabilidade do pigmento para amostras com concentração inicial de $17,3 \pm 0,3$ mg de betanina/100 ml de extrato. O presente trabalho utiliza extratos do bulbo, com concentrações de pigmento mais elevadas, condições para as quais não se obteve informações na literatura referentes à aplicação deste tipo de tratamento e seus efeitos na estabilidade de betalaínas.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Neste capítulo, estão descritos os equipamentos e materiais utilizados, a metodologia experimental e os métodos analíticos empregados na execução dos experimentos. Nas seções que seguem, estão apresentadas as matérias-primas utilizadas, o método de extração, os estudos dos perfis de aquecimento do extrato, bem como da aplicação da tecnologia HTST para seu processamento.

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Desenvolvimento de Novos Materiais e Processos (LADENMP), no Departamento de Engenharia Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

3.1. Matéria Prima

As beterrabas vermelhas (*Beta vulgaris L.*) utilizadas no presente estudo foram adquiridas na Central de Abastecimento do Rio Grande do Sul (CEASA), em Porto Alegre.

3.2. Extração

O método de extração adotado foi o esmagamento, pois permite uma menor susceptibilidade do extrato e, conseqüentemente, do pigmento à degradação, não havendo exposição a elevadas temperaturas e solventes.

As beterrabas utilizadas foram separadas em bulbo e talos com folhas, não sendo utilizada a parte aérea da planta nos experimentos. Os bulbos foram lavados em água corrente e secos.

Optou-se por conduzir o esmagamento de acordo com a metodologia descrita por Gonçalves *et al.* (2012), utilizando uma centrífuga de alimentos (Philips Walitta, modelo RI 1861) na potência máxima, visando a maior retirada de sumo possível, realizando verificação do volume do sumo (líquido) e da massa de bagaço (sólido) após a extração. Os extratos obtidos foram imediatamente embalados em pacotes plásticos e selados com a menor quantidade de ar possível, em porções de 200 mL de sumo, sendo armazenados em ultrafreezer (-38 °C), sob proteção da luz, até a realização dos experimentos.

Todo o processo foi realizado com baixa luminosidade para reduzir as perdas de pigmento durante a extração.

3.3.Perfis de Aquecimento

Os perfis de aquecimento do extrato foram traçados para avaliar o efeito da temperatura e da concentração na curva de aquecimento das amostras. Todos os procedimentos foram realizados em, pelo menos, duplicata.

3.3.1 Preparo das Amostras

Nessa etapa foram processados aproximadamente 16 kg de beterraba por esmagamento, de acordo com a metodologia descrita na seção 3.2. Para cada experimento realizado, um pacote selado de sumo foi descongelado em banho de água à temperatura ambiente (aproximadamente 25 °C), sob proteção da luz.

O sumo bruto apresenta muitas partículas suspensas e pedaços de fibra, portanto, se faz necessária a separação do sobrenadante (rico em betalaínas). Para tanto, utilizou-se centrifugação (centrífuga Cientec, modelo CT-5000R) a 6000 rpm durante 10 minutos a 4 °C seguida de filtração em filtro de papel (Qanty, poro nominal de 25 µm).

Os extratos do bulbo da beterraba utilizados nessa fase dos experimentos apresentaram $74,5 \pm 4,6$ mg de betanina/100mL de extrato. Todo o procedimento foi realizado com baixa luminosidade visando à minimização da degradação do pigmento durante o preparo dos extratos.

3.3.2 Perfil de Aquecimento em função da Temperatura

O sumo filtrado, com sua concentração natural ($74,5 \pm 4,6$ mg de betanina/100mL de extrato), foi colocado em tubos de ensaio, utilizando-se um volume padrão de 3,5 mL de extrato em cada tubo, sendo necessários três tubos de ensaio para a construção de cada perfil de aquecimento.

Foram utilizadas três temperaturas ($65,5 \pm 0,2$ °C; $75,2 \pm 0,2$ °C e $86,1 \pm 0,2$ °C) para que se pudesse estudar o efeito desse fator no aquecimento dos extratos. Foram utilizadas essas temperaturas para verificar se o comportamento de aquecimento era semelhante em uma temperatura mais amena até uma temperatura mais elevada, visando estudar o efeito de diferentes temperaturas nos perfis de aquecimento, especialmente no tempo necessário para alcançar o equilíbrio térmico.

Para cada uma das temperaturas estudadas, o perfil de aquecimento foi determinado colocando um tubo de ensaio, com um termopar acoplado e em contato com a amostra, dentro

de um banho de água previamente aquecido na temperatura adequada. A temperatura do extrato foi observada, durante 5 minutos, a cada 10 segundos.

3.3.3 Perfil de Aquecimento em função da Concentração

Para o estudo do efeito da concentração do extrato no aquecimento da amostra, utilizou-se uma temperatura fixa e três concentrações diferentes de extrato. As concentrações utilizadas foram $74,5 \pm 4,6$ mg de betanina/100mL de extrato, concentração natural do extrato, $49,6 \pm 0,4$ mg de betanina/100mL de extrato e $24,9 \pm 0,6$ mg de betanina/100mL de extrato, sendo esses dois últimos valores de concentração obtidos por diluição com água destilada do extrato natural, não sendo utilizado nenhum tipo de solvente orgânico. Os extratos foram colocados em tubos de ensaio, utilizando-se um volume padrão de 3,5 mL de extrato.

Para cada uma das concentrações estudadas, o perfil de aquecimento foi determinado colocando um tubo de ensaio, com um termopar acoplado e em contato com a amostra, dentro de um banho de água previamente aquecido a $93,9 \pm 0,4$ °C. Essa temperatura foi adotada por ser a maior temperatura possível em um banho de água, devido ao fato de princípio do tratamento térmico estudado neste trabalho ser a aplicação de elevadas temperaturas em um pequeno intervalo de tempo, visando estudar o efeito da concentração do extrato no perfil de aquecimento nessa condição de tratamento. A temperatura do extrato foi observada, durante 3 minutos, a cada 10 segundos.

3.4. Tratamento Térmico a Altas Temperaturas em Curto Tempo (HTST)

Nesta seção, estão discutidas a metodologia utilizada no preparo das amostras e na aplicação do tratamento térmico a altas temperaturas em curto período de tempo, as concentrações iniciais de extrato trabalhadas e o acompanhamento do teor de betalaínas nas amostras tratadas e nas amostras controle. Todos os procedimentos descritos foram realizados em duplicata. Todas as diluições necessárias ao longo do estudo foram realizadas com água destilada, não sendo utilizado nenhum tipo de solvente orgânico.

3.4.1 Preparo das amostras

Nessa etapa foram processados aproximadamente 6 kg de beterraba, de uma safra diferente da utilizada nos experimentos relativos aos perfis de aquecimento, de acordo com a metodologia descrita em 3.3.1.

O sumo do bulbo da beterraba utilizado nos experimentos apresentou $48,3 \pm 3,6$ mg de betanina/100mL de extrato, concentração natural menor do que a utilizada nos experimentos anteriores devido à mudança na safra.

Todo o procedimento foi realizado com baixa luminosidade visando à minimização da degradação do pigmento durante o preparo dos extratos.

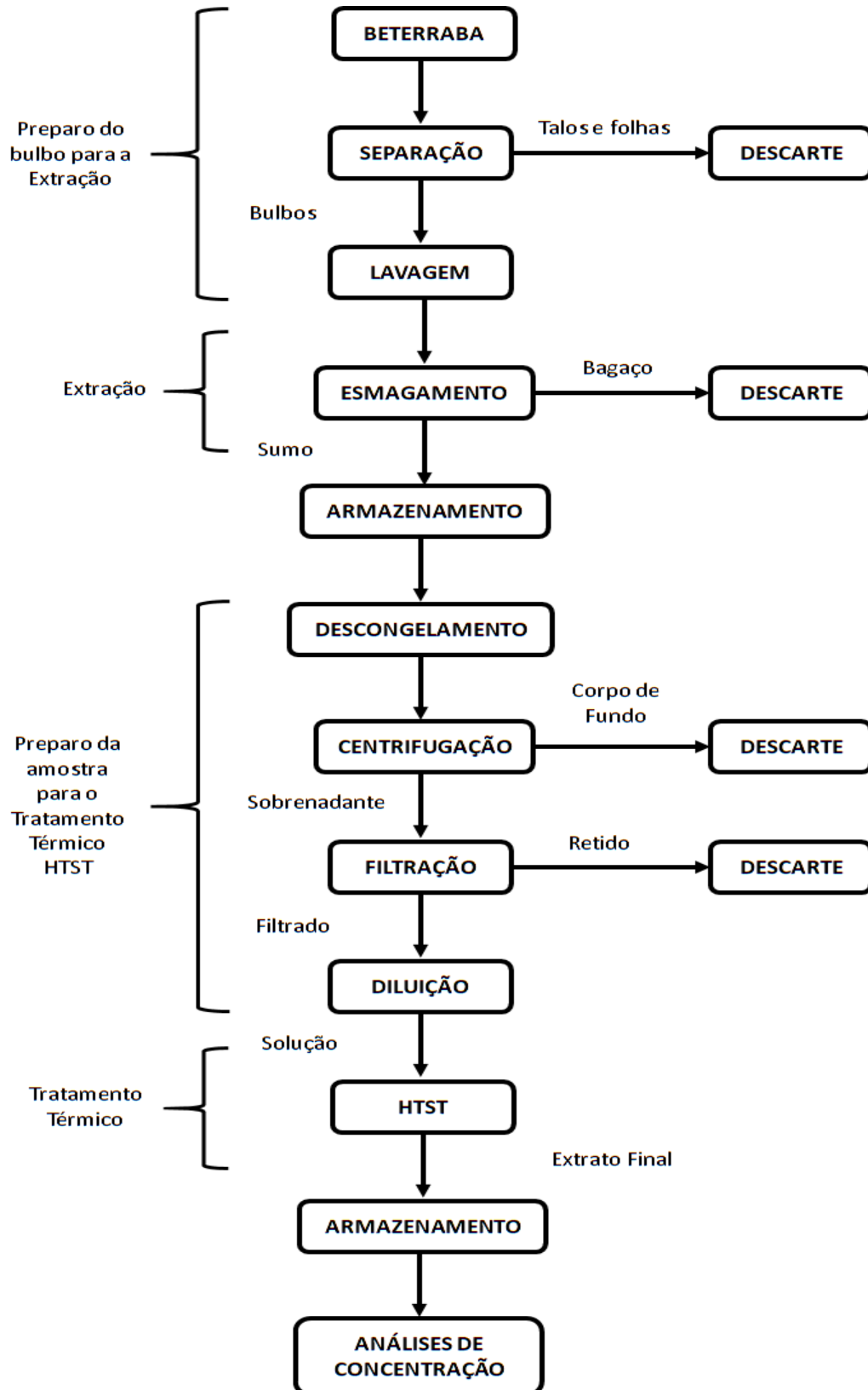
3.4.2 Efeitos do tratamento sobre a concentração e estabilidade das betalaínas de extratos do bulbo da beterraba vermelha

A metodologia adotada para a aplicação do HTST segue a utilizada por Santos *et al.* (2018). Para avaliar os efeitos do tratamento e sabendo que a concentração de pigmento interfere em sua estabilidade e regeneração, foram utilizadas duas concentrações de extrato: $38,9 \pm 0,1$ e $24,2 \pm 0,2$ mg de betanina/100 mL de extrato.

O sumo foi colocado em tubos de ensaio, utilizando-se um volume padrão de 3,5 mL de extrato. Os tubos foram colocados em um banho previamente aquecido a $95,8 \pm 2,5$ °C, durante 120 segundos. Terminado o tempo no aquecimento, os tubos foram imediatamente submetidos à resfriamento em banho de água fria e gelo durante 3 minutos. As amostras resfriadas foram armazenadas em frascos *ependorf* (um para cada dia de análise), sob refrigeração (aproximadamente 4 °C) e protegidas da luz. As amostras de controle foram submetidas à mesma exposição que as amostras tratadas, não passando somente pela etapa do tratamento térmico (aquecimento e resfriamento), sendo armazenadas da mesma forma para a realização das análises.

A concentração de pigmento foi observada no 1° dia (dia do tratamento), bem como no 2°, 3°, 4°, 8° e 10° dia, sendo o tempo total de armazenamento de 10 dias, incluindo o dia da aplicação do tratamento.

Os procedimentos experimentais utilizados no preparo das amostras, na extração do sumo da beterraba vermelha, na aplicação e na avaliação do efeito do tratamento térmico HTST na estabilidade dos compostos de interesse estão representados em um fluxograma na Figura 3.



Fonte: Própria (2018)

Figura 3: Fluxograma de extração e processamento por HTST do extrato de betalaínas proveniente do bulbo da beterraba vermelha

3.5. Análises da qualidade dos extratos

3.5.1 Determinação do Teor de Betalaínas

A betanina é a betalaína majoritária na beterraba vermelha. Dessa forma, as análises para quantificar o teor do pigmento nos extratos foram dadas em função da concentração de betanina (mg de betanina/100 mL de extrato).

O teor de betanina foi quantificado através de espectrofotometria segundo o método de Nilsson, detalhado por Stintzing e Carle (2008b). Neste método, as substâncias co-absorventes e a absorção cruzada de betaxantinas e betacianinas são consideradas e seu efeito é corrigido pela absorção a 600 nm. Para o cálculo da concentração de betalaínas, a seguinte equação foi utilizada:

$$\text{Teor de betalaína (mg/L)} = (A * DF * MW * 1000) / (\epsilon * L) \quad \text{Eq. (1)}$$

na qual A é a absorção $\lambda_{\text{máx}}$ (536 nm) corrigida pela absorção a 600 nm; DF é o fator de diluição empregado; MW é a massa molar (g/mol); ϵ é a absorvidade molar ($\text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$) e L é o comprimento do percurso da luz (cm). Após as devidas conversões, os resultados são expressos em mg/100 mL (STINTZING; CARLE, 2008b).

Para a realização dos experimentos, foi utilizado o espectrofotômetro PG Instruments (T80 UV/VIS).

3.5.2 Análise estatística

Os dados experimentais obtidos para a concentração dos extratos ao longo do tempo foram avaliados pelo teste de análise de variância (ANOVA) e teste de diferenças entre médias, o *Tukey*, utilizando nível de significância de 95 %. Para tanto, utilizou-se o software Statistica® 7.0 para Windows (Statistica 7.0, Stat Soft).

3.5.3 Taxa de degradação do pigmento

Durante o período de armazenamento após a aplicação do tratamento térmico HTST, foi avaliada a degradação das betalaínas a partir da taxa de degradação (TD), relacionando-se a variação de concentração do pigmento ao período de armazenamento. Para o cálculo de TD (mg de betanina/100 mL de extrato), a seguinte expressão foi utilizada:

$$TD = \frac{dC}{dt} \quad \text{Eq. (2)}$$

onde C é a concentração de betalaínas no extrato (mg de betanina/100 mL de extrato) e t é o tempo de armazenamento (dias).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente capítulo são apresentados os resultados obtidos, bem a como a discussão relativa a esses resultados, para os estudos realizados.

Primeiramente, são apresentados os perfis de aquecimento dos extratos, tanto em função da temperatura quanto em função da concentração de pigmento, necessários para o conhecimento do comportamento térmico dos extratos durante o aquecimento. Em seguida, são apresentados os resultados do estudo do efeito do tratamento térmico HTST na estabilidade dos pigmentos de interesse, as betalaínas, incluindo a avaliação da regeneração desses compostos.

4.1. Perfis de Aquecimento

Nesta seção estão apresentados os perfis de aquecimento dos extratos em função da temperatura e da sua concentração, bem como os resultados do estudo do comportamento térmico das amostras.

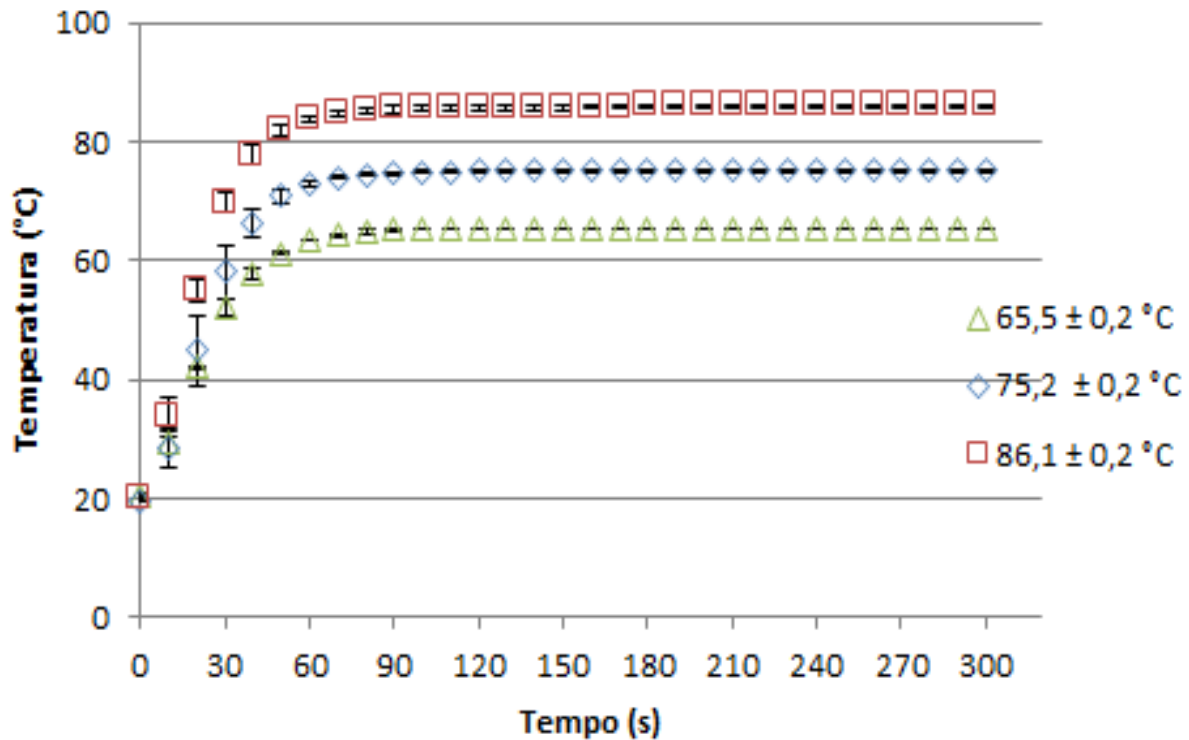
4.1.1 Perfil de Aquecimento em função da Temperatura

Na Figura 4 estão apresentados os perfis de aquecimento dos extratos para as três temperaturas estudadas.

Como pode ser observado nos resultados, o aquecimento das amostras não ocorreu de forma instantânea. Contudo, quando se atingiu o equilíbrio térmico, a temperatura dos extratos ficou bastante próxima a da temperatura utilizada no banho, para todos os casos estudados.

Pela análise dos dados apresentados na Figura 4, observa-se que o equilíbrio térmico foi atingido em aproximadamente 90 segundos para todas as temperaturas, porém, quanto maior a temperatura do banho, maior a temperatura de equilíbrio atingida, demonstrando que um aumento de temperatura de tratamento causa um aumento na velocidade de aquecimento dos extratos.

Tendo em vista os efeitos da temperatura nos perfis, pode-se afirmar, para as condições de tratamento estudadas, que este parâmetro influenciou no aquecimento das amostras, gerando um perfil diferente para cada caso estudado.



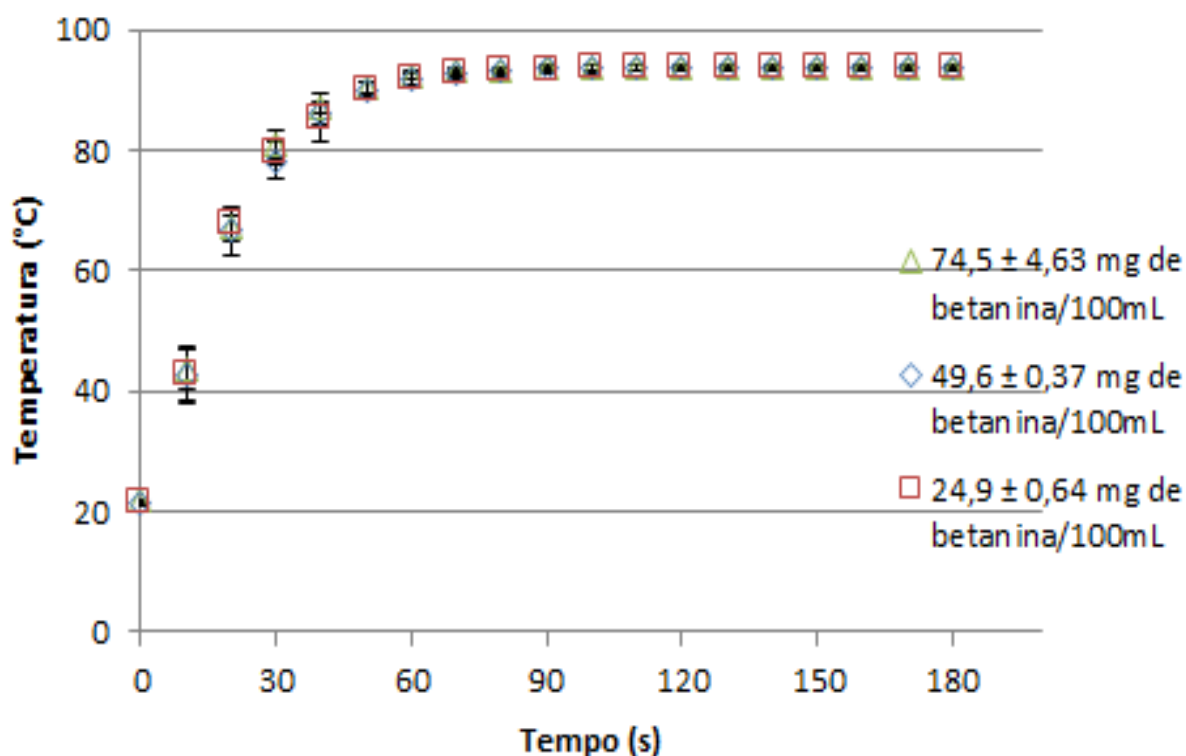
Fonte: Própria (2018)

Figura 4: Perfis de aquecimento dos extratos com concentração de $74,5 \pm 4,6$ mg de betanina/100mL de extrato em função da temperatura

4.1.2 Perfil de Aquecimento em função da Concentração

Na Figura 5 estão apresentados os perfis de aquecimento dos extratos para as três concentrações estudadas. Como pode ser observado, a temperatura dos extratos ficou bastante próxima, quando se atingiu o equilíbrio térmico, da temperatura utilizada no banho para todos os casos estudados.

Para a produção desses perfis, como antes ressaltado, foi tomado um tempo de 180 segundos de aquecimento pois, nos resultados relativos aos perfis de aquecimento em função da temperatura, ficou evidente que não havia necessidade de 300 segundos para se alcançar o equilíbrio térmico. Da mesma forma, quando o parâmetro avaliado foi a concentração, o equilíbrio da temperatura das amostras com a utilizada no banho, $93,9 \pm 0,4$ °C, foi atingido em aproximadamente 90 segundos, porém, o equilíbrio térmico foi o mesmo para todos os casos estudados, isto é, o mesmo perfil de aquecimento foi obtido independente da concentração utilizada, para as condições de processamento estudadas.



Fonte: Propria (2018)

Figura 5: Perfis de aquecimento dos extratos em função da concentração, tratados a uma temperatura de 94 °C.

Tendo em vista que os perfis de aquecimento gerados foram iguais, independentemente da concentração, pode-se afirmar que, para a faixa de valores estudada, esse parâmetro não influenciou no aquecimento das amostras, podendo-se trabalhar com diferentes concentrações, dentro desta faixa, sem que haja mudança nos perfis de aquecimento.

4.2. Tratamento Térmico a Altas Temperaturas em Curto Tempo (HTST)

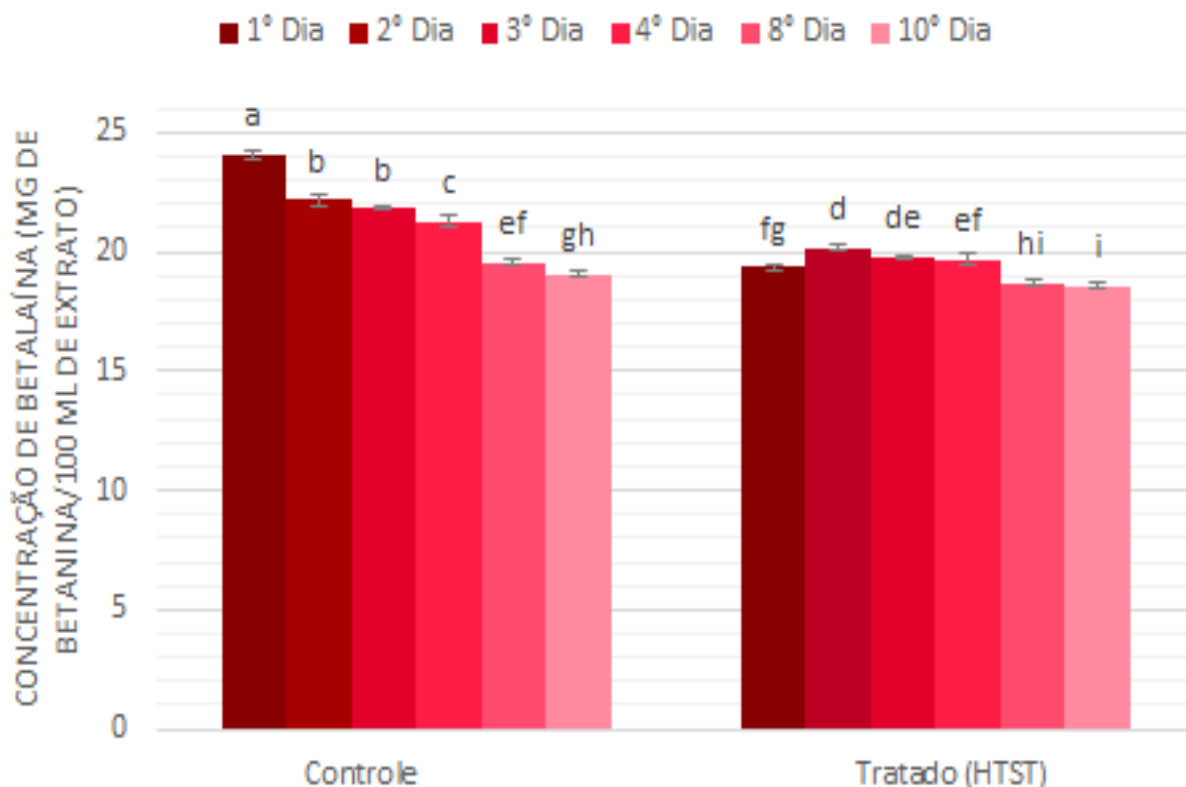
Nesta seção são apresentados os resultados da aplicação do tratamento térmico HTST em extratos do bulbo da beterraba vermelha, avaliando os efeitos deste tratamento na concentração de pigmento, bem como em sua estabilidade e regeneração.

4.2.1 Efeitos do tratamento sobre a estabilidade das betalaínas de extratos do bulbo da beterraba vermelha

A safra de beterraba utilizada nessa fase do trabalho apresentou uma concentração natural menor, $48,3 \pm 3,6$ mg de betanina/100mL de extrato, em relação à safra utilizada anteriormente, cujo valor da concentração natural era $74,5 \pm 4,6$ mg de betanina/100 mL de extrato. Stintzing e Carle (2008a) afirmam que o bulbo da beterraba vermelha apresenta teores entre 40 e 200 mg de betanina/100mL de extrato, sendo a diferença de concentração entre as safras uma variação natural. Em adequação às características da safra utilizada, para a aplicação do tratamento térmico optou-se por trabalhar com concentrações aproximadas de 25 mg de betanina/100 mL de extrato e 40 mg de betanina/100 mL de extrato.

Na Figura 6 estão representadas as concentrações de betalaínas em amostras com menor concentração inicial ($24,2 \pm 0,2$ mg de betanina/100 mL de extrato) tratadas termicamente com HTST e em amostras controle (não tratadas) de mesma concentração, no dia do tratamento (1° dia) e durante o tempo de armazenamento total de 10 dias (2°, 3°, 4°, 8° e 10° dia). Os resultados seguidos por diferentes letras no gráfico indicam diferença significativa ($p < 0,05$) de acordo com o teste estatístico *Tukey*.

Os resultados mostram que o pigmento sofreu degradação pelo tratamento térmico HTST, resultado esperado devido à exposição ao calor. A amostra controle (não tratada) apresentou concentração maior do que a amostra tratada em praticamente todos os dias de armazenamento. Após o período de armazenamento (10 ° dia), a TD de betalaínas da amostra controle foi de 0,501 mg de betanina/100 mL de extrato por dia e, para a amostra tratada durante 120 segundos a aproximadamente 96 °C, foi de 0,078 mg de betanina/100 mL de extrato por dia. Isso demonstra uma melhora na estabilidade das amostras tratadas, visto que a sua taxa de degradação de pigmento foi, aproximadamente, 6 vezes menor do que a taxa de degradação das amostras controle, porém, o tratamento foi muito agressivo às betalaínas, de forma que, mesmo com uma TD maior, a amostra controle manteve sua concentração mais elevada do que a amostra tratada após o período de armazenamento.



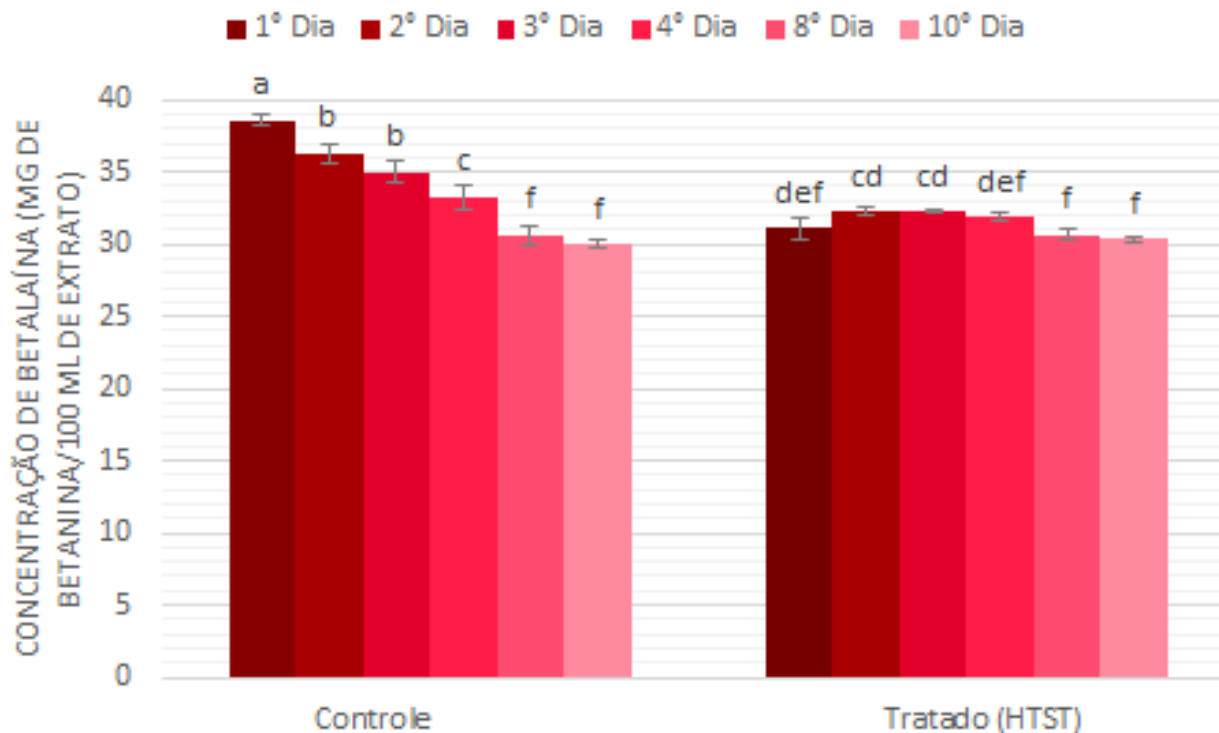
Fonte: Própria (2018).

Figura 6: Concentrações de Betalaínas em amostras com menor concentração inicial ($24,2 \pm 0,2$ mg de betanina/100 mL de extrato) tratadas termicamente com HTST e em amostras controle (não tratadas) ao longo de 10 dias de armazenamento.

Saguy (1979), no seu estudo sobre a cinética de degradação e o tempo de meia-vida do pigmento, determinou o tempo de meia-vida de betalaínas em diferentes temperaturas, demonstrando uma redução nesse tempo com o aumento da temperatura. O tempo de meia-vida de betalaínas foi estimado como 7,3 minutos em um pH intermediário a $100\text{ }^{\circ}\text{C}$, condições próximas das utilizadas nos experimentos conduzidos neste trabalho, logo, pode-se considerar este valor como uma boa estimativa de tempo de meia-vida das betalaínas. A utilização do HTST permitiu trabalhar com um tempo de tratamento menor do que o tempo de meia-vida do pigmento, pois, para uma temperatura de $95,8 \pm 2,5\text{ }^{\circ}\text{C}$, utilizou-se 120 segundos como tempo de aquecimento, levando à possibilidade de redução dos impactos negativos sobre os compostos de interesse.

Na Figura 7 estão representadas as concentrações de betalaínas em amostras com maior concentração inicial ($38,9 \pm 0,1$ mg de betanina/100 mL de extrato) tratadas termicamente com HTST e em amostras controle (não tratadas) de mesma concentração, no

dia do tratamento (1º dia) e durante o tempo de armazenamento total de 10 dias (2º, 3º, 4º, 8º e 10º dia). Os resultados seguidos por diferentes letras no gráfico indicam diferença significativa ($p < 0,05$) de acordo com o teste estatístico *Tukey*.



Fonte: Própria (2018).

Figura 7: Concentrações de Betalaínas em amostras com maior concentração inicial ($38,9 \pm 0,1$ mg de betanina/100 mL de extrato) tratadas termicamente com HTST e em amostras controle (não tratadas) ao longo de 10 dias de armazenamento.

Os resultados mostram que, novamente, o pigmento sofreu degradação pelo tratamento térmico HTST, resultado esperado devido à exposição ao calor. A amostra controle (não tratada) apresentou concentração maior do que a amostra tratada no primeiro, segundo e terceiro dia de armazenamento. Entretanto, após o período de armazenamento (10º dia), a TD de betalaínas da amostra controle foi de 0,861 mg de betanina/100 mL de extrato por dia e, para a amostra tratada durante 120 segundos a aproximadamente 96 °C, foi de 0,078 mg de betanina/100 mL de extrato por dia. Isso demonstra uma melhora na estabilidade do pigmento, visto que a taxa de degradação da amostra tratada é, aproximadamente, 11 vezes menor do que a TD da amostra controle. Além disso, observa-se que a partir do quarto dia de armazenamento há uma diferença de concentração muito pequena entre o tratado e o controle, não havendo diferença significativa nos 8º e 10º dias. Na amostra tratada, não houve redução

significativa de concentração do 4º dia para o 8º dia de armazenamento, diferentemente do ocorrido no controle, no qual uma degradação significativa foi observada neste mesmo período.

Santos *et al.* (2018) estudaram os efeitos da aplicação do tratamento térmico HTST em extratos dos talos da beterraba vermelha, utilizando três diferentes tempos de processamento: 80 segundos (temperatura efetiva de 75,7 °C), 100 segundos (temperatura efetiva de 81,1 °C) e 120 segundos (temperatura efetiva de 85,7 °C). Tomando a última condição de tratamento citada, os autores concluíram que o tratamento não foi eficiente para amostras de concentração mais baixa, porém, melhorou a estabilidade de amostras com maiores concentrações, estando de acordo com os resultados encontrados no presente trabalho. As reduções de concentração de pigmento observadas nas amostras tratadas também condizem com os resultados obtidos pelos autores.

Para as duas concentrações estudadas, a taxa de degradação do pigmento foi menor para as amostras tratadas do que para as amostras controle, sendo que a TD das amostras tratadas após o período de armazenamento foi igual, uma vez que, a relação concentração com o tempo após o tratamento térmico HTST se mostrou independente da concentração do extrato e igual a 0,078 mg de betanina/100 mL de extrato por dia, no 10º dia de armazenamento, para as condições de processamento e concentração estudadas.

No estudo realizado por Mereddy *et al.* (2017), foi aplicado tratamento térmico para o processamento de suco de beterraba vermelha. Os autores observaram que o suco tratado termicamente mostrou uma maior estabilidade quando comparado com o suco não tratado, ao longo do período de armazenamento. Os resultados apresentados pelos autores vão ao encontro dos resultados obtidos neste trabalho, confirmando a contribuição do tratamento térmico para a estabilidade das betalaínas presentes no bulbo da beterraba vermelha.

O tratamento térmico utilizado provocou uma redução na taxa de degradação do pigmento muito maior para as amostras com concentração inicial mais elevada do que para as amostras com concentração inicial mais baixa, para as quais o tratamento foi bastante agressivo. Essa diferença na redução da taxa de degradação e, conseqüentemente, na estabilidade das betalaínas, pode ser devida ao fato de que em concentrações mais altas existe menos solvente e as soluções possuem menor mobilidade dos componentes do que em soluções com menores concentrações. Essa menor mobilidade desfavorece a solubilidade do oxigênio, portanto, desfavorece a oxidação, contribuindo para que os pigmentos sejam mais estáveis (STINTZING; CARLE, 2008a).

4.2.2 Regeneração do pigmento

Conforme pode ser observado nas Figuras 6 e 7, os resultados obtidos a partir das análises de concentração de betalaínas ao longo do período de armazenamento mostraram um aumento na concentração das amostras tratadas no segundo dia, isto é, 24 horas após a aplicação do tratamento térmico HTST, tanto para as amostras de maior concentração inicial, quanto para as amostras de menor concentração inicial. Este aumento na concentração ocorre devido à regeneração das betalaínas, o qual não foi observado nas amostras controle. O fenômeno de regeneração desses pigmentos foi objeto de estudo de alguns trabalhos apresentados pela literatura, se mostrando dependente da temperatura de armazenamento após o tratamento térmico e da concentração de produtos de hidrólise, sendo favorecida por temperaturas baixas de armazenamento e maiores concentrações de ácido betalâmico e ciclodopa-5-O-glicosídeo, relacionadas a maiores temperaturas de tratamento (HUANG; VON ELBE, 1985).

Na Tabela 1 estão apresentados os valores das concentrações no 1º e 2º dia de armazenamento das amostras tratadas, bem como o aumento no teor de pigmento em cada condição de concentração estudada. Os resultados demonstram haver regeneração para ambas as concentrações de pigmento estudadas, porém, para as amostras de maior concentração inicial, a análise estatística dos dados de amostras controle e amostras tratadas não apresenta diferença significativa. Os resultados seguidos por diferentes letras na tabela indicam diferença significativa ($p < 0,05$) de acordo com o teste estatístico *Tukey*.

Tabela 1: Aumento na Concentração de betalaínas e concentração das amostras tratadas com baixa concentração inicial e com alta concentração inicial de pigmento no 1º e 2º dia de armazenamento

	Concentração inicial de betalaínas (mg de betanina/100 mL de extrato)	Concentração da Amostra Tratada (mg de betanina/100 mL de extrato)		Aumento na concentração (mg de betanina/100 mL de extrato)
		1º Dia	2º Dia	
Baixa	24,2 ± 0,2	19,3 ± 0,1 (fg)	20,2 ± 0,1 (d)	0,9 ± 0,2
Alta	38,9 ± 0,1	31,1 ± 0,7 (def)	32,2 ± 0,3 (cd)	1,1 ± 0,2

Fonte: Própria (2018).

No estudo realizado por Huang e Von Elbe (1985), foi demonstrada a regeneração de betalaínas em soluções de pH 5, no qual as soluções passaram por tratamento térmico em diferentes temperaturas, sendo observado um aumento na concentração de pigmento 20 horas após o tratamento. A regeneração foi observada, em particular, após curtos períodos de aquecimento, favorecida pelo armazenamento a baixas temperaturas após o tratamento e com baixa exposição a oxigênio. A solução que foi exposta à maior temperatura de tratamento apresentou os melhores resultados de regeneração pois a quantidade de pigmento degradado foi maior, logo, havia mais ácido betalâmico e ciclodopa-5-O-glicosídeo disponível para a reação inversa, aumentando a taxa de regeneração.

Contudo, no presente trabalho, não foi observado o aumento na regeneração devido à presença de maior concentração de produtos de hidrólise. Para as amostras com menor concentração inicial, a quantidade de pigmento degradada pelo tratamento térmico foi de aproximadamente 4,7 mg de betanina/100 mL de extrato e, para as amostras de maior concentração inicial, a quantidade de betalaínas degradada devido à aplicação do HTST foi de aproximadamente 7,5 mg de betanina/100 mL de extrato, resultando em 19% e 15% de pigmento regenerado para amostras de menor e de maior concentração inicial, respectivamente.

A combinação da elevada temperatura de tratamento (aproximadamente 96 °C) aplicado em um pequeno período de tempo (120 segundos), seguido de resfriamento em banho de água fria e gelo e armazenamento sob refrigeração (aproximadamente 4 °C) foram os fatores que favoreceram a regeneração do pigmento, fenômeno que explica a elevação de concentração de betalaínas do primeiro para o segundo dia de armazenamento em amostras tratadas.

Mereddy *et al.* (2017) estudaram a regeneração de betalaínas em extratos de beterraba tratados termicamente, sendo observada maior regeneração quando o sumo tratado foi armazenado sob refrigeração após a aplicação do tratamento térmico. Da mesma forma, Santos *et al.* (2017) observaram uma alta concentração de pigmento no segundo dia de armazenamento de extratos dos talos da beterraba tratados termicamente com HTST (120 segundos a 85,7 °C), estando os resultados do presente trabalho em concordância com os resultados obtidos por esses autores.

5. CONCLUSÕES

O bulbo da beterraba vermelha apresentou concentrações apreciáveis de betalaínas, sendo também grande a variação do teor de pigmento, devido à variação da safra, ao longo do desenvolvimento do estudo.

O método de extração por esmagamento foi considerado o mais apropriado para a obtenção do sumo da beterraba, visto que não oferecia exposição a solventes e ao calor, fatores que oferecem degradação ao pigmento de interesse. Além disso, o esmagamento se mostrou um método rápido e fácil para a obtenção dos extratos ricos em betalaínas, possibilitando a obtenção de grandes quantidades de suco.

Nos testes referentes ao comportamento térmico das amostras, foi possível observar que o aquecimento não ocorre instantaneamente, sendo necessários 90 segundos de aquecimento para que se atingisse o equilíbrio térmico, nas condições estudadas. Os perfis de aquecimento dos extratos obtidos não se mostraram dependentes da concentração de betalaínas desses extratos, nas condições do estudo, sendo obtidos perfis semelhantes de aquecimento independente da concentração de extrato utilizada. Porém, os perfis de aquecimentos das amostras se mostraram dependentes da temperatura de tratamento. Para cada temperatura de banho utilizada, se obteve uma temperatura de equilíbrio diferente, sendo maior o patamar, quando maior a temperatura. Contudo, o tempo para se atingir o equilíbrio térmico foi igual para todas as temperaturas estudadas (90 segundos), uma vez que o aumento de temperatura causou um aumento na velocidade de aquecimento do extrato.

O tratamento térmico HTST (120 segundos e $95,8 \pm 2,5$ °C) causou degradação das betalaínas em ambas as concentrações de extrato estudadas, sendo demasiadamente agressivo às amostras de menor concentração inicial. Porém, o tratamento térmico promoveu uma melhora na estabilidade tanto de amostras com menor concentração inicial quanto em amostras de maior concentração inicial, sendo mais acentuada a redução na taxa de degradação de betalaínas em amostras de maior concentração inicial.

As condições de tratamento e armazenamento utilizadas favoreceram a regeneração do pigmento, sendo observado um aumento da concentração de pigmento do primeiro para o segundo dia de armazenamento nas amostras de maior e de menor concentração inicial, obtendo-se 19% e 15% de pigmento regenerado para baixa e alta concentração inicial, respectivamente. Para as amostras de menor concentração inicial, a análise estatística dos dados demonstrou diferença significativa de teor do pigmento, deixando clara a regeneração, porém, para as amostras de maior concentração inicial, os resultados demonstraram aumento

no teor de pigmento, mas a análise estatística não apresentou diferença significativa entre os dados.

Os resultados obtidos nos estudos realizados mostram que, com a utilização de tratamentos adequados, é possível alcançar uma melhor estabilidade de betalaínas para a ampliação de sua utilização como corante natural na indústria alimentícia, pois, uma vez contornada a sua limitação de uso devido à baixa estabilidade, a expansão de sua aplicação em alimentos se torna potencialmente promissora.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARSLANOGLU, S.; CORPELEJIN, W.; MORO, G.; BRAEGGER, C.; CAMPOY, C.; COLOMB, V.; DECSI, T.; DOMELLÖF, M.; FEWTRELL, M.; HOJSÁK, I.; MINHATSCH, W.; MOLGAARD, C.; SHAMIR, R.; TURCK, D.; VAN GOUDOEVER, J. **Donor human milk for preterm infants: Current evidence and research directions**. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, v. 57, n. 4, p. 535–542, 2013.

ATTOE, E. L.; VON ELBE, J. H. **Photochemical degradation of betanine and selected anthocyanins**. *Journal of Food Science*, v. 46, p. 1934–1937, 1981.

ATTOE, E. L.; VON ELBE, J. H. **Oxygen involvement in betanine degradation: Effect of antioxidants**. *Journal of Food Science*, v. 50, n. 1, p. 106–110, 1985.

AZEREDO, H.M.C. **Betalains: properties, sources, applications, and stability – a review**. *International Journal of Food Science and Technology*, v. 44, p. 2365–2376, 2009.

BARRERA, F.A.G.; REYNOSO, C.R.; MEJÍA, E.G. de. **Estabilidad de las betalaínas extraídas del garmbullo (*Myrtillocactus geometrizans*)**. *Food Science and Technology International*, v. 4, p. 115–120, 1998.

BLASCO, R.; ESTEVE, M.J.; FRÍGOLA, A.; RODRIGO, M. **Ascorbic acid degradation kinetics in mushrooms in a high-temperature short-time process controlled by a thermoresistometer**. *LWT - Food Science and Technology*, v. 37, p. 171–175, 2004.

CAI, Y.; SUN, M.; CORKE, H. **Colourant properties and stability of *Amaranthus betacyanin* pigments**. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 46, n. 11, p. 4491–4495, 1998.

CAI, Y. Z.; SUN, M.; CORKE, H. **Characterization and application of betalain pigments from plants of the *Amaranthaceae***. *Trends in Food Science & Technology*, v. 16, p. 370–376, 2005.

CELLI, J.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*, v. 100, p. 501–509, 2017.

CZAPSKI, J. **Heat stability of betacyanins in red beet juice and in betanin solutions**. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung*, n. 191, p. 275–278, 1990.

DAMODARAN, S.; PARKIN K. L.; FENNEMA, O. R. **Fennema's food chemistry**. (4^a Ed.) CRC Press: Boca Raton, 2008.

DELGADO-VARGAS, F.; JIMÉNEZ, A. R.; PAREDES-LÓPEZ, O. **Natural pigments: Carotenoids, anthocyanins, and betalains—characteristics, biosynthesis, processing, and stability**. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v. 40, p. 173–289, 2000.

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*, v. 234, p. 285–294, 2017.

GASZTONYI, M. N.; DAOOD, H.; HAJOS, M. T.; BIACS, P. **Comparison of red beet (*Beta vulgaris* var. *conditiva*) varieties on the basis of their pigment components.** Journal of the Science of Food and Agriculture, v. 81, p. 932-933, 2001.

GANDÍA-HERRERO, F.; ESCRIBANO, J.; GARCÍA-CARMONA, F. **Biological activities of plant pigments betalains.** Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 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, 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* CV. Detroit Dark Red.** Plant Foods for Human Nutrition, v. 65, p. 105–111, 2010.

GIRIBALDI, M.; COSCIA, A.; PEILA, C.; ANTONIAZZI, S.; LAMBERTI, C.; ORTOFFI, M.; MORO, G.E.; BERTINOC, E.; CIVERA, T.; CAVALLARIN, L. **Pasteurization of human milk by a benchtop High-Temperature Short-Time device.** Innovative Food Science and Emerging Technologies, n. 36, p. 228–233, 2016.

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, v. 131, p. 231–238, 2012.

GÜNEŞER, O. **Pigment and color stability of beetroot betalains in cow milk during thermal treatment.** Food Chemistry, v. 196, p. 220–227, 2016.

HAVLÍKOVÁ, L.; MÍKOVÁ, K.; KYZLINK, V. **Heat stability of betacyanins.** Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung, v. 177, p. 247–250, 1983.

HEBRACH, K.M.; STINTZING, F.C.; CARLE, R. **Thermal degradation of betacyanins in juices from purple pitaya (*Hylocereus polyrhizus* [Weber] Britton and Rose) monitored by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometric analyses.** European Food Research and Technology, v. 219, p. 377–385, 2004.

HERBACH, K. M.; STINTZING, F. C.; CARLE, R. **Identification of heat-induced degradation products from purified betanin, phyllocactin and hylocerenin by high-performance liquid chromatography / electrospray ionization mass spectrometry.** Rapid Communications in Mass Spectrometry, v. 19, p. 2603–2616, 2005.

HERBACH, K.M.; STINTZING, F.C.; CARLE, R. **Betalain Stability and Degradation - Structural and Chromatic Aspects.** Journal of Food Science, v. 71, n. 4, p. R41 – R50, 2006.

HUANG, A.S.; VON ELBE, J.H. **Kinetics of the degradation and Regeneration of Betanine.** Journal of Food Science, n. 50, p. 1115–1120, 1985.

HUANG, A. S.; VON ELBE, J. H. **Stability comparison of two betacyanine pigments—Amaranthine and betanine.** Journal of Food Science, v. 51, n. 4, p. 670–674, 1986

-
- HUANG, A. S.; VON ELBE, J. H. **Effect of pH on the Degradation and Regeneration of Betanine.** *Journal of Food Science*, v. 52, n. 6, p. 1689–1693, 1987.
- HUANG, W.; BI, X.; ZHANG, X.; LIAO, X.; HU, X.; WU, J. **Comparative study of enzymes, phenolics, carotenoids and color of apricot nectars treated by high hydrostatic pressure and high temperature short time.** *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, v. 18, p. 74–82, 2013.
- JACKMAN, R. L.; SMITH, J. L. **Anthocyanins and betalains.** Em G. F. Hendry e J. D. Houghton (Ed.), *Natural food colourants*, p. 244–309, London: Blackie Academic & Professional, 1996.
- KHAN, M. I.; GIRIDHAR, P. **Plant betalains: Chemistry and biochemistry.** *Phytochemistry*, v. 117, p.267-265, 2015.
- KHAN, M. I. **Stabilization of betalains: A review.** *Food Chemistry*, v.197, p. 1280–1285, 2016.
- 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*, n. 17, p. 1934–1945, 2014.
- LOGINOVA, K. V.; LEOVKA, N. I.; VOROBIEV, E. **Pulsed electric field assisted aqueous extraction of colorants from red beet.** *Journal of Food Engineering*, v. 106, p. 127–133, 2011.
- LU, G.; EDWARDS, C.G.; FELLMAN, J. K.; MATTINSON, D. S.; NAVAZIO, J. **Biosynthetic origin of geosmin in red beets (*Beta vulgaris* L.).** *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 51, n. 4, p. 1026 –1029, 2003.
- MANCHALI, S.; MURTHY, K. N. C.; NAGARAJU, S.; NEELWARNE, B. **Stability of Betalain Pigments of Red Beet.** Em B. Neelwarne (Ed.), *Red Beet Biotechnology: Food and Pharmaceutical Applications*, p. 55-74. Springer Science + Business Media: New York, 2013.
- MARTINS, N.; RORIZ, C. L.; MORALES, P.; BARROS, L.; FERREIRA, I. C. F. R. **Coloring attributes of betalains: a key emphasis on stability and future applications.** *Food & Function*, v. 8, p. 1357–1372, 2017.
- 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*, n. 215, p. 311–317, 2017.
- MOUSSA-AYOUB, T. E.; JAEGER, H.; YOUSSEF, K.; KNORR, D.; EL-SHAMAHY, S.; KROH, L. W.; ROHN, S. **Technological characteristics and selected bioactive compounds of *Opuntia dillenii* cactus fruit juice following the impact of pulsed electric field pre-treatment.** *Food Chemistry*, v. 210, p.249-261, 2016.

NAYAK, C. A.; CHETHANA, S.; RASTOGI, N. K.; RAGHAVARAO, K. S. M. S. **Enhanced mass transfer during solid–liquid extraction of gamma-irradiated red beetroot.** *Radiation Physics and Chemistry*, v. 75, p. 173–178, 2006.

OHLSSON, T.; BENGTSSON, N. **Minimal processing of foods with thermal methods.** Em Ohlsson, T., Bengtsson, N. (Ed), *Minimal Processing Technologies in the Food Industry*, p. 4-33, Cambridge: Woodhead publishing, 2002.

RAVICHANDRAN, K.; SAW, N. M. M. T.; MOHDALY, A. A. A.; GSBR, A. M. M.; KASTELL, A.; RIEDEL, H.; CAI, Z.; KNORR, D.; SMETANSKA, I. **Impact of processing of red beet on betalain content and antioxidant activity.** *Food Research International*, n. 50, p. 670-675, 2013.

RUDRAPPA T.; NEELWARNE, B.; KUMAR, V.; LAKSHMANAN, V.; VENKATARAMAREDDY, S.R.; ASWANTHANARAYANA, R.G. **Peroxidase production from hairy root cultures of red beet (*Beta vulgaris*).** *Electronic Journal of Biotechnology*, v. 8, n. 2, p. 185–196, 2005.

SAGUY, I.; KOPELMAN, I. J.; MIZRAHI, S. **Thermal Kinetic Degradation of Betanin and Betalamic Acid.** *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 26, n. 2, p. 360-362, 1978.

SAGUY, I. **Thermostability of Red Beet Pigments (Betanin and Vulgaxanthin-I): Influence of pH and Temperature.** *Journal of Food Science*, n. 44, p. 1554-1555, 1979.

SANTOS, C.D. **Extração, clarificação e estabilização de betalaína proveniente de talos de beterraba vermelha (*Beta vulgaris* L.).** Tese (Programa de Pós-graduação em Engenharia Química) – Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2017.

SANTOS, C. D.; ISMAIL, M.; CASSINI, A. S.; MARCZAK, L. D. F.; TESSARO, I. C.; FARID, M. **Effect of thermal and high pressure processing on stability of betalain extracted from red beet stalks.** *Journal of Food Science and Technology*, v. 55, n. 2, p. 568-577, 2018.

SAPERS, G.M.; HORNSTEIN, J.S. **Varietal differences in colorant properties and stability of red beet pigments.** *Journal of Food Science*, v. 44, p. 1245–1248, 1979.

SCHIOZER, A. L.; BARATA, L. E. S. **Estabilidade de Corantes e Pigmentos de Origem Vegetal.** *Revista Fitos*, p. 6-24, 2007.

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

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

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

STINTZING, F.C.; CARLE, R. **Analysis of Betalains**. Em C. Socaciu (Ed.), Food colorantes: Chemical and Functional Properties, p. 507-520, CRC Press: Boca Raton, 2008b.

STRACK, D.; VOGT, T.; SCHLIEMANN, W. **Recent advances in betalain research**. Phytochemistry, v. 62, p. 247–269, 2003.

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

VON ELBE, J.H.; MAING, I.; AMUNDSON, C.H. **Colour stability of betanin**. Journal of Food Science, v. 39, p. 334–337, 1974.

WOOTTON-BEARD, P.C.; RYAN, L. **A beetroot juice shot is a significant and convenient source of bioaccessible antioxidants**. Journal of functional foods, v. 3, p. 329 – 334, 2011.