

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA

SHEILA PEREIRA KRIGGER

**OBTENÇÃO E APLICAÇÃO DE MICROCÁPSULAS DE BETALAÍNAS
EXTRAÍDAS DA PITAYA VERMELHA COMO CORANTE NATURAL EM
IOGURTES E AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE ATRAVÉS DE IMAGENS
DIGITAIS**

Porto Alegre
2019

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA

SHEILA PEREIRA KRIGGER

**OBTENÇÃO E APLICAÇÃO DE MICROCÁPSULAS DE BETALAÍNAS
EXTRAÍDAS DA PITAYA VERMELHA COMO CORANTE NATURAL EM
IOGURTES E AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE ATRAVÉS DE IMAGENS
DIGITAIS**

Trabalho de conclusão apresentado junto à atividade de ensino “Trabalho de Conclusão de Curso - QUI” do Curso de Química, como requisito parcial para a obtenção do grau de Bacharel em Química Industrial.

Prof(a). Dr(a). Simone Hickmann Flôres
Orientadora

Ma. Michele Utpott
Co-orientadora

Porto Alegre
2019

AGRADECIMENTOS

À minha família pelo suporte e amor ao longo de toda essa etapa da minha vida;
À Simone e à Michele pela orientação e por me ajudarem a executar esse trabalho;
À Fernanda pelo auxílio e disponibilidade e aos professores Bruna e Ferrão pelos ensinamentos;
A todos meus amigos e colegas que fizeram com que essa jornada fosse mais divertida e leve, principalmente à Natália que riu e chorou comigo em todas as cadeiras;
À família Ramos por me acolher e facilitar grande parte desse processo.
À UFRGS e ao Instituto de Química pela formação e ao ICTA pela estrutura para realização desse projeto.

RESUMO

A pitaya vermelha (*Hylocereus polyrhizus*) ainda é pouco explorada no Brasil, mas apresenta um grande potencial para ser utilizada como corante natural devido à presença de betalaínas na sua polpa e casca. Esses pigmentos naturais, no entanto, são mais instáveis que os corantes sintéticos, sendo necessário um estudo das condições de processo e obtenção para uma aplicação eficiente em diversos produtos. A encapsulação visa proteger um composto através da ação de um material de parede que o envolve, formando uma barreira física contra as condições ambientais. Como as betacianinas são compostos termossensíveis, a secagem por *spray-dryer* para a obtenção de um pó é uma boa alternativa pois apesar de utilizar temperaturas elevadas o tempo de secagem é de poucos segundos. Para obtenção do extrato inserido no *spray-dryer*, as betalaínas presentes na polpa ou na casca da fruta foram extraídas com ácido cítrico 1% (m/v). Essa mistura foi então centrifugada e maltodextrina foi adicionada ao sobrenadante para atuar como material de parede nas concentrações de 10% (M10) e 20% (M20) para extrato da polpa e 10% (MC10) para o extrato da casca. As condições de operação do *spray-dryer* foram 130°C e 0,4 L/h. Os rendimentos foram de 33,6% para M10, 26,6% para M20 e 8,6% para MC10, sendo essa última não aplicada no iogurte devido ao baixo rendimento. A quantidade de betanina nos corantes, medida por HPLC-DAD, foi $701,2 \pm 2,4$, $399,6 \pm 28,3$ e $176,2 \pm 3,0 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ para M10, M20 e MC10, respectivamente. O diâmetro de partícula foi $9,4 \pm 0,1 \mu\text{m}$ para M10 e $9,0 \pm 0,3 \mu\text{m}$ para M20, e ambas apresentaram formato esférico por MEV. Os corantes M10 (Y10) e M20 (Y20) e o extrato puro da polpa (YE) foram então aplicados em iogurte natural e sua estabilidade foi avaliada durante 21 dias com colorímetro e com o aplicativo para análise colorimétrica PhotoMetrix com (câmera endoscópica em uma caixa isolada com luz de LED controlada) e sem (diretamente com a câmera do *smartphone*) controle de luz. Pelo colorímetro, o YE foi o que mais teve perda de cor, e os iogurtes Y10 e Y20 apresentaram perdas semelhantes. Devido às interferências de reflexão na superfície do iogurte pela luz de LED utilizada no sistema com controle de luz e à interferência da luz ambiente no sistema sem controle de luz os resultados foram diferentes aos do colorímetro e diferentes entre si. Assim, ainda são necessários aprimoramentos para a quantificação de betanina por imagens digitais pois ambos os sistemas apresentaram elevados valores de branco no fim da análise, não sendo possível calcular limites de detecção e quantificação.

Palavras-chave: Corante natural. Betalaínas. *Spray-drying*. Encapsulação. PhotoMetrix. Pitaya. Iogurte.

ABSTRACT

The red pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) is still underexplored in Brazil, but it has a great potential to be used as a natural dye due to the presence of betalains in its pulp and peel. These natural pigments, however, are more unstable than synthetic ones, requiring a study of process and production conditions for efficient application in several products. The encapsulation aims to protect a compound through the action of a wall material that surrounds it, forming a physical barrier against environmental conditions. Because betacyanins are thermosensitive compounds, the spray-drying technique to obtain a powder is a good alternative since despite using high temperatures the drying time is a few seconds. To obtain the extract inserted in the spray-dryer, the betalains present in the pulp or fruit peel were extracted with citric acid 1% (w/v). This mixture was then centrifuged and maltodextrin was added to the supernatant to act as a wall material in 10% (M10) and 20% (M20) concentrations for pulp extract and 10% (MC10) for the peel extract. The operating conditions of the spray-dryer were 130°C and 0.4 L/h. Yields were 33.6% for M10, 26.6% for M20 and 8.6% for MC10, the last one were not applied to yogurt due to the low yield. The amount of betanin in the powders measured by HPLC-DAD was 701.2 ± 2.4 , 399.6 ± 28.3 and $176.2 \pm 3.0 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ for M10, M20 and MC10, respectively. The particle diameter was $9.4 \pm 0.1 \mu\text{m}$ for M10 and $9.0 \pm 0.3 \mu\text{m}$ for M20, and both presented spherical shape by SEM. The M10 (Y10) and M20 (Y20) dye and the pure pulp extract (YE) were then applied to natural yoghurt and their stability was evaluated for 21 days with a colorimeter and PhotoMetrix app for colorimetric measures with (endoscopic camera in a box isolated with controlled LED light) and without (directly with the smartphone camera) light control. By the colorimeter, the YE was the one that had the most loss of color, and the yogurts Y10 and Y20 presented similar losses. Due to the interference of reflection on the surface of the yoghurt by the LED light used in the system with light control and the interference of the ambient light in the system without light control the results were different from those obtained with the colorimeter and different from each other. Thus, enhancements to the quantification of betanin by digital images are still necessary since both systems presented high blank values at the end of the analysis and it was not possible to calculate limits of detection and quantification.

Keywords: Natural dye. Betalains. Spray-drying. Encapsulation. PhotoMetrix. Pitaya. Yoghurt.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Estrutura geral do ácido betalâmico (a), betacianinas (b), betaxantinas (c) e cromóforo (d)

FIGURA 2 – Fatores que afetam a estabilidade das betalaínas

FIGURA 3 – Pitaya vermelha (*Hylocereus polyrhizus*).

FIGURA 4 – Encapsulação de betacianinas com maltodextrina

FIGURA 5 – *Spray-dryer*

FIGURA 6 – Aparato para aquisição de imagem com controle de luz (A) e sem controle de luz (B)

FIGURA 7 – Microcápsulas do extrato de pitaya vermelha

FIGURA 8 – Imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura das microcápsulas do extrato de pitaya vermelha

FIGURA 9 – Iogurtes nos dias inicial e final da análise

FIGURA 10 – Parâmetros de cor (L^* , a^* , b^*) ao longo dos dias de análise

FIGURA 11 – Concentração de betanina ao longo dos dias de análise por PhotoMetrix com controle de luz

FIGURA 12 – Concentração de betanina ao longo dos dias de análise por PhotoMetrix sem controle de luz

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Características físicas e químicas das microcápsulas.

TABELA 2 – Redução da concentração inicial de betanina nos iogurtes medida por PhotoMetrix com e sem controle de luz e redução do parâmetro a^* medido por colorímetro.

TABELA 3 – Parâmetros da curva de calibração e recuperação para cada sistema de aquisição de imagem.

TABELA 4 – Análise de custo para produção de 30 g de corante em pó com 10% de maltodextrina (M10).

TABELA 5 – Preço dos corantes.

TABELA 6 – Preço dos equipamentos utilizados para avaliação da estabilidade.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
2. OBJETIVOS	12
2.1 Objetivos específicos	12
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	13
3.1 Pigmentos naturais	13
3.1.1 Betalaínas	14
3.2 Pitaya	17
3.3 Encapsulação	18
3.3.1 Spray-drying	20
3.3.2 Liofilização	22
3.3.3 Materiais de parede	22
3.4 Aproveitamento de resíduos de frutas e vegetais	23
3.5 Quantificação de substâncias através de imagens digitais	24
4. METODOLOGIA	25
4.1 Amostras	25
4.2 Extração de betalaínas da polpa e da casca	26
4.3 Encapsulação	26
4.4 Caracterização dos encapsulados	26
4.4.1 Umidade e atividade de água	26
4.4.2 Rendimento	26
4.4.3 Análise do tamanho de partícula	27
4.4.4 Microscopia eletrônica de varredura	27
4.4.5 Quantificação das betalaínas por HPLC-DAD	27
4.5 Aplicação em iogurte natural	28
4.6 Análise colorimétrica	28
4.6.1 Método convencional	28
4.6.2 Aplicativo de análise colorimétrica - Photometrix	29
4.7 Análise Estatística	30
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
5.1 Caracterização das microcápsulas	30

5.1.1	Umidade e atividade de água	30
5.1.2	Rendimento	30
5.1.3	Cor e conteúdo de betanina	30
5.1.4	Tamanho de partícula e microscopia eletrônica de varredura	32
5.2	Avaliação da estabilidade e quantificação de betanina em iogurte natural	33
5.2.1	Avaliação da estabilidade por colorímetro	34
5.2.2	Avaliação da estabilidade e quantificação por PhotoMetrix com controle de luz	36
5.2.3	Avaliação da estabilidade e quantificação por PhotoMetrix sem controle de luz	38
6.	ANÁLISE DE CUSTOS	39
6.1	Métodos de produção	39
6.2	Reagentes e corantes comerciais	40
6.3	Equipamentos para avaliação da estabilidade	41
7.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	43
8.	REFERÊNCIAS	45

1. INTRODUÇÃO

Corantes são utilizados em alimentos industrializados a fim de melhorar a percepção de qualidade pelo consumidor e, além disso, alguns alimentos perdem sua cor natural ao passar por processamentos industriais, necessitando do uso de corantes para sua restauração. Mudanças no estilo de vida dos consumidores vem fazendo com que os corantes naturais sejam preferidos em comparação aos tradicionais corantes sintéticos como o vermelho 40 e o corante natural ácido carmínico. Assim, pesquisas para obtenção de substitutos naturais para esses corantes vêm sendo desenvolvidas.

As betalaínas são um grupo de moléculas que apresentam cor do amarelo (betaxantinas) ao vermelho (betacianinas). Essas moléculas estão presentes em alimentos como a beterraba e a pitaya vermelha, porém quando extraídas da beterraba o corante apresenta um sabor terroso devido à presença de geosmina e pirazinas. Desta forma, a extração de betacianinas da pitaya, que apresenta um sabor fraco, para uso como corante natural é uma alternativa ao uso da beterraba. A pitaya vermelha (*Hylocereus polyrhizus*) pertence à família dos cactos (*Cactaceae*) e é nativa das regiões tropicais e subtropicais da América Latina. No Brasil há grande produção no estado de São Paulo, mas já há um aumento na produção no Rio Grande do Sul. A alternativa de uso da fruta como corante surge tanto pelo descarte da casca do fruto, como pelo descarte de frutas que não estão no padrão dos supermercados, dando um destino para esses resíduos.

Os corantes naturais são mais sensíveis que os corantes sintéticos, sendo afetados pela temperatura, pH, luz, constituintes da matriz, entre outros. Para que eles possam ser aplicados em alimentos da forma mais eficiente possível a encapsulação do pigmento com um material de parede é uma alternativa para protegê-los. A atomização por *spray-dryer* é um dos métodos mais utilizados pela indústria de alimentos, por ser um método rápido, de baixo custo e eficiente para obtenção de corantes em pó. Assim, nesse estudo foram produzidos corantes de betalaínas extraídas da polpa e da casca da pitaya vermelha, utilizando a técnica de *spray-dryer* e a maltodextrina como material de parede, e posteriormente foram aplicados em iogurte natural.

Para avaliar a estabilidade da aplicação desses pigmentos extraídos da fruta em modelos de sistemas alimentares como o iogurte existem diversos métodos, como a colorimetria e a espectrofotometria. Este último, porém, exige uma etapa prévia de preparo de amostra para extrair os compostos de interesse do alimento em que foram aplicados, o que pode ocasionar perdas nas diversas etapas de tratamento que precisam ser aplicadas. Uma alternativa para

quantificar o composto sem necessidade de extraí-lo da matriz é o uso de imagens digitais, apenas utilizando um *smartphone* para captura de imagens do alimento e comparando com uma curva de calibração.

2. OBJETIVOS

Este trabalho tem como objetivo o uso da polpa e da casca da pitaya vermelha (*Hylocereus polyrhizus*) para a produção de um corante natural e avaliação de sua estabilidade em iogurte natural através do uso de imagens digitais.

2.1 Objetivos específicos

Como objetivos específicos têm-se:

- Obter um extrato de betalaínas da polpa e casca de pitaya vermelha;
- Produzir a microcápsula por secagem em *spray-dryer* a partir do extrato das betalaínas;
- Caracterizar as microcápsulas quanto ao tamanho de partícula, morfologia e teor de betalaínas;
- Aplicar as microcápsulas em iogurtes e avaliar a mudança de cor ao longo da vida de prateleira do produto utilizando colorímetro;
- Testar o aplicativo PhotoMetrix para quantificação de betacianinas em iogurtes através de imagens digitais.

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Pigmentos naturais

Pigmentos são compostos químicos que absorvem luz em um determinado comprimento de onda na região do visível. Podem ser moléculas orgânicas ou inorgânicas, de fontes naturais ou sintetizadas em laboratório. Os cromóforos são grupos funcionais orgânicos insaturados responsáveis por absorver energia na região do ultravioleta ou do visível, ou seja, essa estrutura absorve energia e excita um elétron para um orbital de maior nível energético enquanto a energia não absorvida é captada por nossos olhos (SKOOG *et al.*, 2006).

Devido a mudanças no estilo de vida ocorridas a partir do final do século passado, houve um aumento no consumo de produtos processados. Os corantes passaram então a ser utilizados em alimentos industrializados a fim de melhorar a percepção de qualidade pelo consumidor, uma vez que a cor está diretamente relacionada a isso (DOWNHAM; COLLINS, 2000). Além disso, alguns alimentos perdem sua cor natural ao passar por processamentos industriais, fazendo-se necessário o uso de corantes para sua restauração (AZEREDO, 2009).

Mudanças sociológicas como a preferência dos consumidores por produtos mais naturais, devido a receios sobre o uso de aditivos em geral e os avanços na tecnologia para obtenção e estabilização dos pigmentos naturais, conduziram a novas possibilidades na indústria de processamento de alimentos, gerando um crescimento no mercado de pigmentos (DESOBRY, 1998; DOWNHAM; COLLINS, 2000; HANSEN, 1999). O interesse por processos mais sustentáveis também contribuiu para o crescimento do mercado, gerando estudos sobre fontes alternativas para obtenção dos pigmentos que tenham baixo custo e menor impacto no meio ambiente (CAI; SUN; CORKE, 2005; SCHWEIGGERT, 2018).

Dentre os corantes naturais mais utilizados estão as antocianinas, os carotenoides e o ácido carmínico. As antocianinas apresentam cores que variam do vermelho ao azul, dependendo do pH, e são encontradas em diversas frutas como uva, amora e morango, e também em repolho roxo, milho preto e cenoura preta. Os carotenoides apresentam cor amarela, laranja e vermelha, sendo encontrados na cenoura, tomate, semente de urucum, entre outros. O ácido carmínico varia a cor entre laranja e vermelho e a laca de ácido carmínico varia entre rosa e vermelho. Como esse corante é extraído das fêmeas do inseto cochonilha, não é bem aceito por vegetarianos e veganos (DOWNHAM; COLLINS, 2000).

Os corantes naturais são bem variados em relação a sua solubilidade, sendo alguns solúveis em água como as antocianinas, betalainas e ácido carmínico, enquanto outros são solúveis em óleo como os carotenoides e as clorofilas (DOWNHAM; COLLINS, 2000). Além

disso, as moléculas dos corantes naturais não apresentam a mesma estabilidade que os corantes sintéticos, sendo sensíveis à oxidação, luz, pH e temperatura, o que pode dificultar o processamento de alimentos com esses corantes (CAI; CORKE, 1999).

Pesquisas sobre o uso das betalaínas (amarelo ao vermelho), mais especificamente das betacianinas (rosa a vermelho), como corantes naturais em produtos alimentícios ainda são escassas, mas apresentam um grande potencial para desenvolvimento de novos produtos (AGUILAR-TUESTA *et al.* 2018; GENGATHARAN; DYKES; CHOO, 2017; WONG; SIOW, 2015).

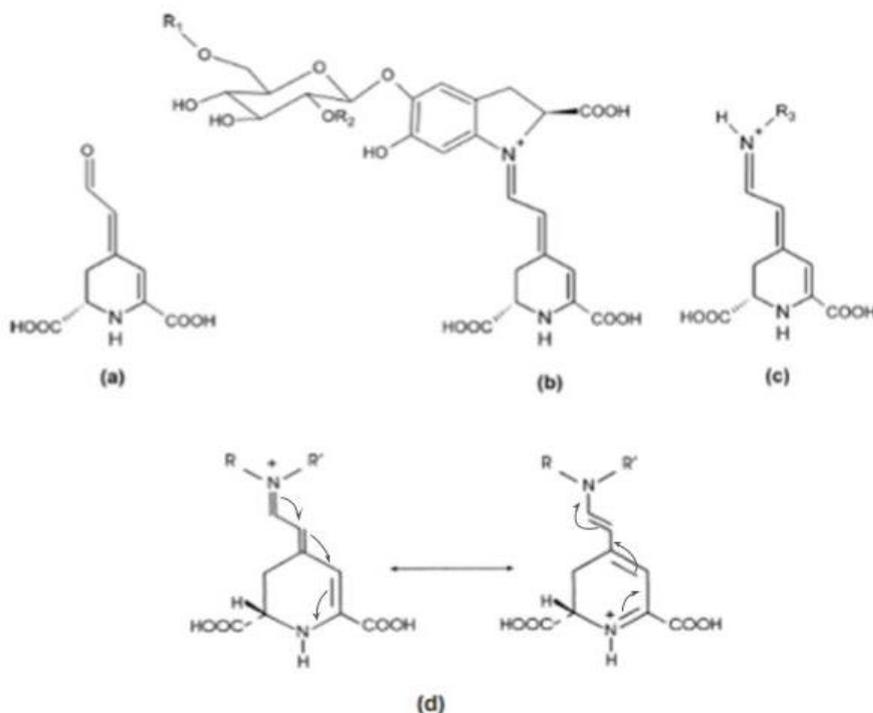
3.1.1 Betalaínas

Betalaínas são pigmentos nitrogenados solúveis em água, derivados do ácido betalâmico, apresentado na Figura 1 (a), que é a estrutura comum a todas as betalaínas (STRACK; VOGT; SCHLIEMANN, 2003). São divididas em dois grandes grupos, betacianinas e betaxantinas, dependendo dos ligantes inseridos no cromóforo, o sistema 1,7-diazaheptametina protonado, ilustrado na Figura 1(d) (JACKMAN; SMITH, 1996). Com substituintes como aminoácidos ou aminas, a absorção do cromóforo não é alterada, tendo seu máximo em 480 nm (amarelo) e caracterizando as betaxantinas cuja estrutura é apresentada na Figura 1(c). Quando a conjugação do sistema é estendida devido a presença do ligante ciclo-3,4-di-hidroxifenilalanina (ciclo-Dopa), ocorre um deslocamento e o máximo de absorção muda para 540 nm (violeta), caracterizando as betacianinas, como pode ser visto na Figura 1(b) (AZEREDO, 2009; STRACK; VOGT; SCHLIEMANN, 2003).

Essas moléculas são encontradas em frutos, raízes, flores e até mesmo em fungos. Exercem diversas funções biológicas tanto em plantas quanto em humanos, além da função de coloração (STINTZING; CARLE, 2004). Apresentam atividade antiviral e antimicrobiana (DELGADO-VARGAS *et al.*, 2000), além de atividade antioxidante (GONÇALVES *et al.*, 2013; KANNER; HAREL; GRANIT, 2001), estando relacionadas à prevenção de doenças relacionadas a estresse oxidativo em humanos.

As betalaínas são comumente extraídas com água à baixas temperaturas ou em temperatura ambiente, mas normalmente misturas com etanol ou metanol são necessárias para completa extração (DELGADO-VARGAS *et al.*, 2000). Ácido ascórbico pode ser adicionado ao meio extrator para aumentar a estabilidade das betalaínas através da diminuição do pH, além de inibir a oxidação por polifenoloxidasas (MORENO *et al.*, 2008).

Figura 1. Estrutura geral do ácido betalâmico (a), betacianinas (b), betaxantinas (c) e cromóforo (d).



Betanina: R₁ = R₂ = H. R₃ = amina ou grupo aminoácido.

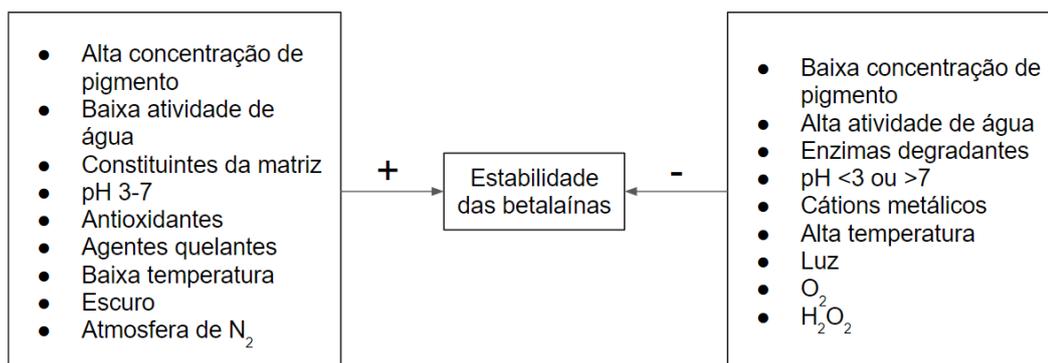
Fonte: AZEREDO, 2009; JACKMAN; SMITH, 1996.

Fatores como a temperatura, pH, presença de oxigênio, luz e atividade de água afetam a estabilidade das betalaínas (DELGADO-VARGAS *et al.*, 2000; TSAI *et al.*, 2010), sendo a temperatura o fator mais crítico quando se trata do processamento de produtos contendo essas moléculas (GONÇALVES *et al.*, 2013). Uma relação dos fatores que influenciam na estabilidade das betalaínas é apresentada na Figura 2. Em produtos industrializados, para garantir a melhor retenção do pigmento e da sua cor, as condições de tempo-temperatura devem ser cuidadosamente estudadas (HERBACH; STINTZING; CARLE, 2006). Além do processamento, as condições de armazenamento do pigmento também serão importantes para sua estabilidade.

A degradação das betacianinas aumenta em altas temperaturas, seguindo uma cinética de primeira ordem, sendo que em 60 °C já existe perda de pigmentação (IZAGUIRRES *et al.*, 2018; SAGUY; KOPELMAN; MIZRAHI, 1978). As betalaínas não apresentam mudança na sua cor entre pH 3,5 e 7 sendo adequadas para aplicação em vários alimentos (DELGADO-VARGAS *et al.*, 2000), porém as betacianinas apresentam melhor estabilidade em pH entre 4

e 5 além de ter um aumento na sua estabilidade quando há a remoção de oxigênio do meio (HUANG; VON ELBE, 1987). Cai e colaboradores (1999) verificaram que as betacianinas do *Amaranthus* apresentaram boa estabilidade em diferentes condições de armazenamento, no entanto se mostraram mais instáveis que o corante sintético Eritrosina (E127).

Figura 2. Fatores que afetam a estabilidade das betalaínas



Fonte: HERBACH; STINTZING; CARLE, 2006.

Além dos fatores já citados, os constituintes da matriz em que o pigmento será aplicado, sua estrutura, concentração, cátions metálicos, enzimas descolorantes, agentes quelantes, antioxidantes e composição da atmosfera também têm efeito na estabilidade (HERBACH; STINTZING; CARLE, 2006). Sendo assim, a aplicação das betalaínas é mais recomendada para produtos com vida de prateleira curta, que passam por um tratamento térmico brando, embalados e comercializados secos, na ausência de luz, oxigênio e umidade (DELGADO-VARGAS et al., 2000).

De acordo com o Codex Alimentarius (2004), a utilização das betalaínas como corantes tem como restrição apenas as Boas Práticas de Fabricação, não tendo uma quantidade máxima recomendada. Calculado como betanina (denominação que será utilizada neste trabalho), a quantidade de composto puro necessário para obter a tonalidade desejada é relativamente baixa, quase sempre inferior a 50 ppm (DELGADO-VARGAS et al., 2000). Atualmente, a fonte para a produção de betacianinas como corantes é a beterraba (*Beta vulgaris*), seja na forma de concentrado (concentração a vácuo) ou de pó (*freeze-* ou *spray-drying*). A tendência na pesquisa, assim, é encontrar fontes alternativas para extração de betacianinas, uma vez que é relatado impacto negativo no sabor e odor dos alimentos quando a beterraba é utilizada como

fonte de extração do pigmento, devido à presença de geosmina e pirazinas (AZEREDO, 2009; CAI; SUN; CORKE, 2005; STINTZING; CARLE, 2004).

A fonte mais promissora de betalaínas é a família *Cactaceae*, englobando os cactos do gênero *Opuntia* e pitayas dos gêneros *Cereus*, *Hylocereus* e *Selenicereus*, uma vez que são os cultivos mais comuns. O sabor fraco das frutas de cactos faz com que seu consumo na forma pura não seja o maior potencial de mercado para elas, e por esse mesmo motivo elas se tornam uma alternativa ao uso da beterraba como fonte de betalaínas. As polpas das frutas dos cactos do gênero *Hylocereus* contêm altas concentrações de betacianinas (0,23-0,39 %) (AZEREDO, 2009). Em um estudo de Naderi *et al.* (2012), a concentração de betacianinas encontrada foi de 811 mg por litro de suco de pitaya puro, enquanto Bakar *et al.* (2011) quantificaram o teor de betacianinas da casca da pitaya de polpa vermelha, e encontraram uma concentração de 150,46 mg por 100 g de matéria seca, valor similar ao do pó comercial da beterraba (CAI; CORKE, 2000), indicando o potencial corante da polpa e do seu resíduo.

3.2 Pitaya

A pitaya é uma fruta nativa de regiões tropicais, que pertence à família dos cactos, *Cactaceae*, muito encontrada em países das Américas Central e do Sul e no México, sendo cultivada comercialmente em Taiwan, Nicarágua, Colômbia, Vietnã, Israel, Austrália e EUA (MIZRAHI; NERD; NOBEL, 1997; WU, *et al.*, 2006). O interesse pelo fruto, ainda pouco conhecido no Brasil, vem aumentando por ter aparência exótica e propriedades nutricionais atrativas como presença de fibras e antioxidantes (DE ANDRADE; MARTINS; SILVA, 2008; ORTIZ; TAKAHASHI, 2015).

Nativa de regiões quentes e úmidas, é cultivada com sucesso a céu aberto em países tropicais, mas em regiões subtropicais são necessárias proteções contra alta irradiação solar e à temperaturas menores que 3 °C (NERD; MIZRAHI, 1997). No Brasil, as principais áreas de produção, até 2006, se situavam na região de Catanduva, no estado de São Paulo, com produtividade anual de 14 toneladas de fruto por hectare (DÉBORA COSTA *et al.*, 2006; MOLINA *et al.*, 2014). Atualmente o cultivo vem se expandindo no país, inclusive no estado do Rio Grande de Sul, com produção principalmente em Novo Hamburgo pelo grupo Pitaya do Brasil.

Dentre as diversas variedades da fruta as mais consumidas e facilmente encontradas são a pitaya de polpa branca e casca amarela (*Selenicereus megalathus*), a pitaya de polpa branca e casca vermelha (*Hylocereus undatus*) e a pitaya de polpa vermelha e casca vermelha

(*Hylocereus polyrhizus*) (Figura 3). Essas frutas tem despertado grande interesse como fonte de cor para indústria de alimentos e de cosméticos. A pitaya de polpa e casca vermelha (*Hylocereus polyrhizus*) é de grande interesse pois sua cor sugere altas quantidades de pigmentos naturais, as betalaínas (GARCÍA-CRUZ *et al.*, 2013).

Figura 3. Pitaya vermelha (*Hylocereus polyrhizus*).



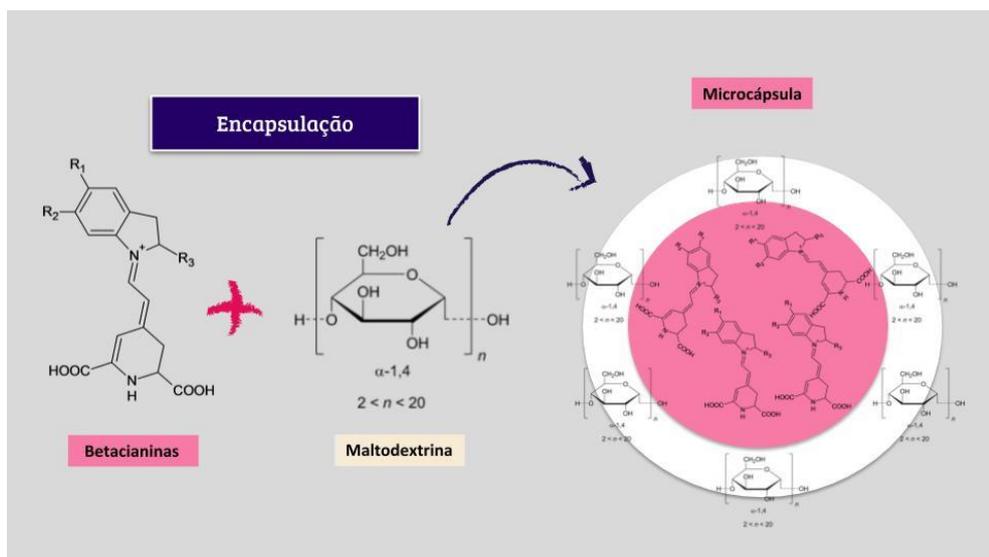
Fonte: Google Imagens.

No México e em Israel as espécies de *Hylocereus* são usadas como aditivos e corantes em sorvete. Embora a maior renda dos produtores seja a venda do fruto fresco, a pitaya tende a se desprender do pé quando amadurece, causando danos à parte externa da fruta que impossibilitam a comercialização para esse fim. Assim, frutas muito maduras ou com defeitos podem ser vendidas para a indústria de processamento para produção de corantes, farinhas, entre outros aditivos, suplementando a renda dos agricultores (MIZRAHI; NERD; NOBEL, 1997).

3.3 Encapsulação

A técnica de encapsulação é utilizada há mais de 60 anos com a finalidade de proteger substâncias de condições ambientais adversas como luz, umidade e oxigênio (Figura 4). A encapsulação forma uma barreira física entre a substância de interesse e o meio externo, sendo aplicada para acidulantes, gorduras, flavorizantes, entre outros (DESSAI; PARK, 2005; SHAHIDI; HAN, 1993). É definida como uma técnica de embalagem de sólidos, líquidos ou gases, sendo essas substâncias (agentes ativos) aprisionadas dentro de um agente encapsulante (material de parede), podendo ser liberadas de forma controlada (NEDOVIC *et al.*, 2011).

Figura 4. Encapsulação de betacianinas com maltodextrina.



Fonte: Autora.

Microcápsulas são pequenas vesículas que podem variar de tamanho, entre 5 e 300 μm de diâmetro, tendo diferentes morfologias (GIBBS *et al.*, 1999). Podem ser cápsulas mononucleares, onde apenas um núcleo é envolvido por uma camada do material de parede, e podem ser agregados onde vários núcleos se encontram envolvidos pelo material de parede (DESSAI; PARK, 2005). Seu formato vai depender da técnica utilizada para a encapsulação, do agente ativo e do material de parede (FANG; BHANDARI, 2010). São utilizados como material de parede carboidratos, gomas, proteínas, polissacarídeos naturais e modificados, lipídios e polímeros sintéticos (GIBBS *et al.*, 1999).

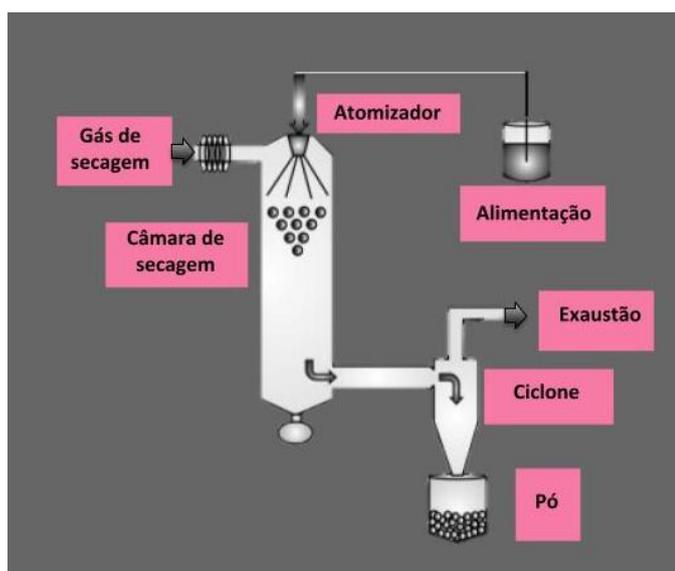
É uma tecnologia utilizada para melhorar a estabilidade de moléculas bioativas em alimentos sem que elas se degradem antes de serem consumidas, prevenindo reações indesejáveis com a matriz, mantendo o produto funcional (DE VOS *et al.*, 2010; NEDOVIC *et al.*, 2011). Além disso, pode modificar características físicas das substâncias, facilitando sua aplicação; pode melhorar a diluição de compostos que são usados em pouca quantidade e ainda obter uma distribuição uniforme; e também pode mascarar o sabor do agente ativo (FANG; BHANDARI, 2010; NEDOVIC *et al.*, 2011; SHAHIDI; HAN, 1993).

Existem diversas técnicas para encapsular uma substância, a maioria baseada na secagem. Alguns exemplos são *spray drying*, *spray cooling*, liofilização, extrusão, cocristalização, entre outras (DESSAI; PARK, 2005). Neste trabalho o método de encapsulação utilizado foi a secagem por atomização (*spray drying*).

3.3.1 *Spray-drying*

A encapsulação por *spray-drying* vem sendo utilizada na indústria de alimentos desde o final dos anos 1950 para proteger óleos da degradação/oxidação e para transformar líquidos em pó (Figura 5). É o processo mais utilizado na indústria por ser econômico, flexível quanto a matriz, ser adaptável aos equipamentos comumente utilizados, além de produzir partículas de qualidade. O que limita o seu uso é o número de materiais de parede existentes pois estes devem ser largamente solúveis em água, e o contrário retarda o processo devido a baixa quantidade de sólidos inseridos no equipamento (DESAI; JIN PARK, 2005). Alguns exemplos de materiais de parede são açúcares, gomas, proteínas, lipídios, polímeros sintéticos, além de outros polissacarídeos naturais ou sintéticos (DESAI; JIN PARK, 2005; FANG; BHANDARI, 2010; GIBBS *et al.*, 1999). Os ingredientes secos são valorizados pela sua conveniência e estabilidade na vida útil (AUGUSTIN; HEMAR, 2009).

Figura 5. *Spray-dryer*



Fonte: SOSNIK; SEREMETA, 2015

Quando é utilizado o *spray-dryer*, a substância de interesse é homogeneizada em uma dispersão do material de parede, geralmente em uma proporção de 1:4, e então é inserida no equipamento, onde é atomizada em um bico de pequeno diâmetro e, devido a alta temperatura do ar no equipamento, o solvente (geralmente água) é evaporado e o pó é coletado (DE VOS *et al.*, 2010; GIBBS *et al.*, 1999). Como a relação área de superfície/volume das gotas formadas é alta, a secagem leva poucos segundos e a temperatura do núcleo das microcápsulas não

ultrapassa 100 °C, reduzindo alterações indesejáveis em substâncias termossensíveis (AZEREDO, 2005).

A produção de pó do extrato da pitaya através de *spray-drying* é uma técnica comum para estabilização de seus pigmentos naturais, mas ainda são poucos os estudos que avaliam a influência das condições de processamento e materiais de parede nas propriedades físico-químicas do pó produzido (TZE *et al.*, 2012).

No estudo de Tze *et al.* (2012), foi avaliada a influência de 2 concentrações diferentes de maltodextrina como material de parede (20 e 30%) e 4 diferentes temperaturas de entrada (145, 155, 165, e 175 °C) nas propriedades físico-químicas do pó como umidade, atividade de água, formato das partículas e quantidade de betacianinas. Quanto a umidade e atividade de água todos os pós apresentaram valores microbiologicamente e quimicamente seguros, mas o pó produzido a 155 °C e 20% de maltodextrina (com umidade de $4,07 \pm 0,12$ %) apresentou a maior quantidade de betacianinas ($44,72 \pm 0,15$ mg/100 g de pó), sendo este escolhido para as outras análises. O pó mostrou presença de proteínas ($0,182 \pm 0,02$ %), gorduras ($1,203 \pm 0,09$ %), cinzas ($0,794 \pm 0,28$ %), fibras ($38,051 \pm 7,58$ %) e antioxidantes (DPPH, $2,25 \pm 0,09$ IC₅₀/mg/L).

Lee; Wu e Siow (2013) estudaram encapsulação dos extratos da pitaya de polpa branca e de polpa vermelha, e obtiveram os maiores rendimentos com temperaturas de entrada de 110 e 120 °C, respectivamente, e com 30% (m/v) de maltodextrina como material de parede. As propriedades do pó obtido a partir da pitaya de polpa vermelha se mostraram adequadas quanto ao tempo necessário para solubilizar em água (136 ± 4 s), atividade de água ($0,354 \pm 0,001$), densidade ($0,38 \pm 0,01$ g/mL) e cor, mas a atividade antioxidante (AAEC, $10,4 \pm 0,1$ mg/100 g) foi menor que no extrato antes de passar pela secagem (AAEC, $13,2 \pm 1,0$ mg/100 g). Apesar da perda significativa de betacianinas durante o processo (de 196 ± 10 para $58,8 \pm 3,9$ mg/L), o encapsulado apresentou uma cor roxa ($H^{\circ} = 329,0 \pm 0,1$).

A encapsulação por *spray-dryer* também foi utilizada por Bakar *et al.* (2013) para produção do pó da casca da pitaya vermelha. Nesse estudo, o pigmento (betacianina) foi considerado estável no pó quando seco entre 155 e 175 °C, sendo a melhor condição a 165 °C e com 15% de maltodextrina. O produto obtido apresentou cor rosa ($L= 66,94$, $a^*= 27,72$), baixa umidade (3,30 %), baixa atividade de água (0,300) e elevada retenção de betacianinas (87,62 %).

3.3.2 Liofilização

A liofilização, ou *freeze-drying*, é um processo utilizado para secar aromas e materiais sensíveis a altas temperaturas. Exceto pelo longo tempo requerido para a desidratação (normalmente 20 horas), é uma técnica simples, adequada para a encapsulação de materiais aromáticos (DESAI; JIN PARK, 2005). O processo é baseado no congelamento da água presente nos materiais e, com a redução da pressão e uma pequena elevação na temperatura (em torno de 50 °C), na sublimação dessa água. Assim, a água passa do estado sólido direto para o estado gasoso, sem o uso de temperaturas elevadas para a ebulição da água. Os encapsulados se formam à medida que o material do núcleo se homogeneiza em uma solução matricial e depois co-liofilizam, geralmente resultando em formatos incertos (FANG; BHANDARI, 2010).

Produtos com altos teores de açúcares como sucos, frutas e vegetais podem colapsar quando liofilizados, ou seja, a viscosidade do produto fica tão baixa que chega no nível crítico e o produto encolhe, dificultando sua aplicação (BHANDARI; DATTA; HOWES, 1997). Para evitar que isso ocorra são utilizados suportes de alto peso molecular como polímeros e gomas. O mais utilizado, no entanto, é a maltodextrina, que apresenta baixa higroscopicidade, alta solubilidade em água fria e baixo custo (MOLINA *et al.*, 2014).

Para encapsulação de betalaínas extraídas de beterraba, Ravichandran *et al.* (2014) testaram diferentes materiais de parede e métodos de secagem. A liofilização permitiu a utilização das gomas xantana e guar, enquanto a secagem por *spray-dryer* possibilitou apenas o uso de goma xantana em baixas concentrações devido à alta viscosidade que as gomas conferem à solução. Além disso, a recuperação das betalaínas após o processo de secagem foi maior no caso do pó liofilizado.

Molina *et al.* (2014) utilizaram a técnica de *freeze-drying* para obtenção do pó da polpa da pitaya (*Hylocereus undatus*) e avaliaram o comportamento do pó quanto a higroscopicidade, densidade e aglomeração de partículas em diferentes embalagens. A embalagem laminada apresentou os melhores resultados ao longo do tempo de armazenamento, porém quanto ao tamanho de partícula, o diâmetro (D90=175,771 µm) foi maior do que para pós obtidos por *spray-drying* (6,9 a 9,5 µm).

3.3.3 Materiais de parede

Os materiais utilizados para encapsular ingredientes que serão aplicados em alimentos devem ser de grau alimentício. Para isso existem diversas biomoléculas e aditivos químicos liberados e creditados como GRAS (Generally Recognized as Safe). Devem ser avaliadas

também a solubilidade do material, sua capacidade emulsificante e de aumentar a viscosidade dos sistemas de trabalho (AUGUSTIN; HEMAR, 2009).

Moléculas de carboidratos como amidos, maltodextrinas e gomas são muito utilizadas como encapsulantes devido à sua diversidade, baixo custo e aplicabilidade em alimentos. Além disso possuem propriedades desejáveis como baixa viscosidade em altos teores de sólidos e boa solubilidade (MADENE *et al.*, 2006). A goma arábica é muito eficiente como material de parede para encapsulação de aromas e sabores, devido às suas características de solubilidade, viscosidade e emulsificação, porém é um material caro (GIBBS *et al.*, 1999; MADENE *et al.*, 2006).

A maltodextrina é um amido modificado que tem baixo custo e está disponível em diferentes pesos moleculares, calculados como “dextrose equivalente” (DEs), que mede o grau de hidrólise do amido comparando o poder redutor do material em relação a mesma quantidade em peso de dextrose (KENYON, 1995; MADENE *et al.*, 2006). Ainda, a maltodextrina apresenta baixa viscosidade em altos teores de sólidos, que é desejada em sistemas que devem conter altos teores de sólidos antes da etapa de secagem. Além disso, devido a sua temperatura de transição vítrea ser menor que a de outros açúcares, esse material reduz a quantidade de material que fica grudado na parede da câmara de secagem (AUGUSTIN; HEMAR, 2009).

Bakar *et al.* (2013) verificaram em seu estudo sobre as condições de obtenção dos encapsulados utilizando casca de pitaya, que a concentração de maltodextrina influencia na cor do pó obtido. Quanto maior a porcentagem de maltodextrina adicionada (8 a 22 % m/m) maior foi o parâmetro L^* de cor, referente a luminosidade, e menor o parâmetro de cor a^* , referente a cor vermelha. Assim, o uso de maltodextrina como material de parede em pequenas quantidades pode ser favorável para obtenção de um pigmento natural extraído de uma fruta como a pitaya.

3.4 Aproveitamento de resíduos de frutas e vegetais

A indústria de alimentos gera uma grande quantidade de resíduos do processamento de frutas e vegetais, resíduos esses que apresentam propriedades que poderiam ser aproveitadas em outras aplicações. Pensando nisso, a cultura do reaproveitamento de resíduos industriais como matéria-prima para novos produtos vem se desenvolvendo (ETXABIDE *et al.*, 2017; NAWIRSKA; KWAŚNIEWSKA, 2005). Novas tecnologias prometem a sua recuperação, reciclagem e sustentabilidade, gerando produtos de alto valor agregado dentro da indústria de

alimentos (GALANAKIS, 2012). Dentre os resíduos aproveitados estão as cascas, sementes e bagaços de frutas e vegetais.

Os estudos focam principalmente em resíduos agrícolas e da indústria de processamento de alimentos, pois essas fontes são abundantes, concentradas em poucos locais e são menos suscetíveis a deterioração do que os resíduos produzidos no fim da cadeia produtiva, como restaurantes ou refeições caseiras (GALANAKIS, 2012). Resíduos de frutas e vegetais são os mais investigados pois são fonte para a extração de uma grande variedade de corantes, antioxidantes e fibras dietéticas (GALANAKIS, 2012; IAHNKE *et al.*, 2016; WIJNGAARD; RÖBLE; BRUNTON, 2009). O desafio dos pesquisadores é realizar uma extração eficiente que gere um produto de qualidade, seguro e que preserve os compostos bioativos presentes nos resíduos.

A pitaya vermelha (*Hylocereus polyrhizus*) tem como resíduo de processamento a sua casca e também as frutas que estão fora do padrão exigido em supermercados. A quantidade estimada de casca descartada mundialmente é de 0,8 a 4 toneladas por hectare, sendo uma grande fonte de resíduo que atualmente é utilizada apenas como fertilizante (CHIA; CHONG, 2015). Assim, os resíduos de pitaya vermelha podem ser aproveitados para produção de um corante natural, extraindo as betalaínas presentes na casca e na polpa, gerando um produto que pode ser amplamente utilizado na indústria de alimentos.

3.5 Quantificação de substâncias através de imagens digitais

O interesse pelo uso de imagens digitais para quantificação de substâncias vem crescendo pois é um procedimento fácil, rápido, de baixo custo, baixo consumo de reagentes e portátil, diferente da maioria dos equipamentos analíticos (MARINHO *et al.*, 2019). A captação das imagens pode ser feita com *scanners* de mesa, câmeras digitais e até mesmo com *smartphones* (MOHAMED; SHALABY, 2019). O método é baseado nos diferentes sistemas de cores, como por exemplo o RGB (vermelho, verde e azul, do inglês *red, green and blue*), onde um software decompõe a imagem no sistema escolhido, construindo curvas analíticas a partir dessas informações.

Marinho *et al.* (2019), determinaram a concentração de etanol em bebidas destiladas baseando-se na interação do etanol na capacidade de absorção de radiação da fenolftaleína. Assim, quanto maior a concentração de etanol, mais ele afeta as estruturas de ressonância responsáveis pela absorção de radiação da fenolftaleína, diminuindo a intensidade da cor que a mesma apresenta. Medindo essa diminuição de cor com o auxílio de um *smartphone* e um

suporte feito em impressora 3D para minimizar efeitos do meio externo na captação da imagem, os autores conseguiram uma resposta linear para concentrações de etanol entre 10 % e 70 % (v/v). A conversão para níveis RGB foi feita através de um aplicativo no próprio *smartphone*. O método mostrou-se tão preciso quanto o método de referência AOAC que utiliza um picnômetro.

Mohamed e Shalaby (2019) fizeram a comparação de diferentes equipamentos para captação das imagens digitais para determinação de ferro, sendo eles um *scanner* de mesa, uma câmera digital e um *smartphone*. Todos apresentaram excelente linearidade, $R^2 > 0,99$. Foi aplicado em amostras de água do rio Nilo, solos, plantas, carne e fígado, após pré-tratamento das mesmas para extração do analito e reação com um indicador colorido. O método com câmera digital em uma plataforma desenvolvido pelos autores se mostrou sensível e simples, com resultados competitivos com espectrômetros sofisticados, sem diferença significativa aplicando o teste-t e teste-F ($p = 0,05$).

Trejo-Tapia, *et al.* (2007) quantificaram betacianinas em culturas de *Beta Vulgaris* L. com o auxílio de uma câmera de vídeo para aquisição de imagens digitais e de um *software* para conversão aos níveis RGB. O método foi comparado com a quantificação espectrofotométrica e ambos apresentaram boa correlação ($r^2 = 0.94$, $p \leq 0.05$), sendo a primeira vez em que imagens digitais foram utilizadas para quantificação de betacianinas. Uma vantagem do método é que não houve necessidade de extração das moléculas para quantificação, como há no método espectrofotométrico, sendo uma análise não destrutiva nesse caso.

Assim, foi estudada nesse trabalho a utilização de imagens digitais para avaliação da estabilidade dos corantes produzidos quando aplicados em iogurte. A aquisição foi feita com *smartphone*, o que torna o processo simples, barato, rápido e não destrutivo, não havendo a necessidade de extrair o analito da amostra, uma vez que ele já apresenta cor, evitando perdas.

4. METODOLOGIA

4.1 Amostras

Os frutos da pitaya vermelha (*Hylocereus polyrhizus*) foram cedidos pelo grupo Pitaya do Brasil, localizado na cidade de Novo Hamburgo, no estado do Rio Grande do Sul. Após o recebimento, os frutos foram higienizados e as partes deterioradas foram removidas. As cascas foram separadas das polpas manualmente e posteriormente ambas foram congeladas em câmara fria a -12°C .

4.2 Extração de betalaínas da polpa e da casca

A extração do pigmento foi realizada através de uma adaptação das metodologias de Tang; Norziah, (2007) e Sandate-Flores *et al.* (2016). Uma quantidade de polpa (M10 e M20) foi adicionada a uma solução de água acidificada (1 % m/v ácido cítrico) na proporção de 1:1 (m/v), e a mistura foi agitada por 30 minutos em agitador mecânico. Posteriormente, a mistura foi centrifugada (Hitachi, CR 21GIII, Japão) a 10000 g e 4 °C por 15 minutos. O sobrenadante foi coletado para posterior secagem. Para extração das betalaínas presentes na casca (MC10), uma quantidade da mesma foi primeiramente processada até completa homogeneização com água acidificada (1 % m/v ácido cítrico) na proporção de 1:2 (m/v), e o restante do processo foi como descrito para a polpa.

4.3 Encapsulação

A encapsulação dos compostos extraídos da polpa e da casca da pitaya foi realizada por processo de atomização utilizando um *spray-dryer*. O material de parede utilizado foi maltodextrina DE20, adicionado em diferentes quantidades, 10% (M10 e MC10) e 20% (M20) (m/v), no extrato. A metodologia utilizada foi conforme a descrita por Lee; Wu; Siow, (2013), com adaptações. A mistura de extrato com maltodextrina foi homogeneizada em agitador mecânico por 30 minutos, e seu teor de sólidos solúveis foi medido em refratômetro digital. Em seguida a solução foi inserida no secador tipo *spray-dryer* de escala piloto MSDi 1.0 (LabMaq, Brasil), com temperatura de entrada do ar de 130 °C, temperatura de saída do produto em torno de 95 °C e fluxo de alimentação de 0,4 L/min.

4.4 Caracterização dos encapsulados

4.4.1 Umidade e atividade de água

A umidade foi determinada através do método gravimétrico (AOAC, 1990). A atividade de água (a_w) foi medida em aparelho analisador de atividade de água portátil HygroPalm (Rotronic, Suíça).

4.4.2 Rendimento

O rendimento do pó foi calculado de acordo com García-Lucas *et al.* (2016) através da equação abaixo:

$$\text{Rendimento (\%)} = \frac{W_p - (X_{wb} \times W_p)}{V_s \times S_t} \times 100 \quad (1)$$

Onde W_p é o peso do pó (g); X_{wb} é o teor de umidade dos pós em base úmida; V_s é o volume da amostra alimentado no secador; e S_t é o total de sólidos (g de matéria seca/mL), determinado pela equação 2:

$$S_t = \frac{W_2 - W_1}{V} \quad (2)$$

Onde W_2 é o peso da cápsula com resíduo seco (g); W_1 é o peso da cápsula (g); e V é o volume da amostra (mL).

4.4.3 *Análise do tamanho de partícula*

A determinação da distribuição de tamanho de partícula foi feita por difração de laser no equipamento Mastersizer 2000 Malvern Instruments Ltd. (Worcestershire, Reino Unido) para detectar a presença ou não de micropartículas. Os dados foram analisados no *software* Mastersizer 2000® 5.61, que apresenta os valores de $d(0.9)$, $d(0.1)$, e $d(0.5)$ que são os diâmetros de 90, 10 e 50% da curva de distribuição de tamanho cumulativo, respectivamente, o diâmetro médio volumétrico de esfera equivalente $D[4,3]$, e o valor de *span* que indica a dispersão granulométrica e é calculado conforme a equação abaixo:

$$Span = [d(0.9) - d(0.1)] / d(0.5) \quad (3)$$

4.4.4 *Microscopia eletrônica de varredura*

A morfologia e a aparência superficial da partícula do pó (M10 e M20) foram determinadas utilizando um microscópio eletrônico de varredura JSM-6060 (JEOL, EUA), localizado no Centro de Microscopia Eletrônica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. O pó foi fixado em *stubs* com fitas adesivas metálicas de ambos os lados e coberto com ouro. A voltagem utilizada foi 10 kV. A ampliação utilizada foi 1000x.

4.4.5 *Quantificação das betalaínas por HPLC-DAD*

As betaninas totais das microcápsulas foram extraídas baseadas na metodologia de Stoll *et al.* (2016) com algumas modificações. 8 mL de metanol acidificado/água foram adicionados a cerca de 50 mg de cada amostra (50:50), a solução foi ultrasonificada (Unique, USC 1400A, Brasil) por 5 minutos e foi então centrifugada (Hitachi, model CR 21GIII, Japão) a 3500 g por 10 min. O procedimento foi realizado até a extração completa do pigmento. O sobrenadante foi filtrado em membrana 0,45 μ m antes da injeção no equipamento sistema de análise.

A quantificação do pigmento das microcápsulas por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) foi realizada conforme descrito por Stintzing *et al.* (2002), utilizando uma curva padrão de betanina. O isolamento das betacianinas do extrato da pitaya vermelha foi

realizado utilizando um sistema de HPLC Shimadzu (Kyoto, Japão), equipado com duas bombas LC-20AD, um amostrador automático SIL20AHT, coluna CTO-20A e detector de arranjo de diodos SPD-M20A (DAD). Os compostos foram separados em uma coluna C₁₈ de fase reversa, com tamanho de partícula de 5 µm (250 x 4 mm; RP-18; Merck; Alemanha), com uma taxa de fluxo de 0,9 mL/min e temperatura de 29 °C. A fase móvel A consistiu em uma solução 2% (v/v) de ácido acético em água, e a fase móvel B foi 0,5 % de ácido acético em água e acetonitrila (50/50, v/v). A eluição foi feita seguindo um gradiente linear de 10% B em A para 27% B em A em 44 minutos. Foi feito monitoramento simultâneo a 538 nm e 476 nm para betacianinas e betaxantinas, respectivamente.

4.5 Aplicação em iogurte natural

Foi adicionado 1,5 g de microcápsula M10 em 300 g de iogurte natural comercial (Y10), e 4,6 g de M20 (Y20). O volume de 25 mL de extrato líquido puro sem maltodextrina foi adicionado também em 300 g de iogurte para comparação (YE). As quantidades adicionadas de M20 e extrato foram para obter a mesma cor inicial do iogurte com 1,5 g de M10, avaliada por colorímetro Minolta CR-300 (Konica Minolta, Japão). As amostras de iogurte foram avaliadas quanto à perda de cor utilizando colorímetro e perda de betanina utilizando o aplicativo PhotoMetrix ao longo de 21 dias.

4.6 Análise colorimétrica

4.6.1 Método convencional

A análise de cor foi realizada no colorímetro Minolta CR-300 (Konica Minolta, Japão), através dos parâmetros a^* , b^* e L^* do sistema de análise de cor CIE, onde $L^* = 100$ (branco), a^* ($-a^*$ = verde e $+a^*$ = vermelho), b^* ($-b^*$ = azul e $+b^*$ = amarelo) e a fonte de luz como D65. O ângulo hue (H) foi calculado segundo a Equação 4, a saturação ou chroma (C) conforme a Equação 5 e a diferença global de cor conforme a Equação 6.

$$H = \tan^{-1} \left(\frac{b^*}{a^*} \right) \quad (4)$$

$$C = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad (5)$$

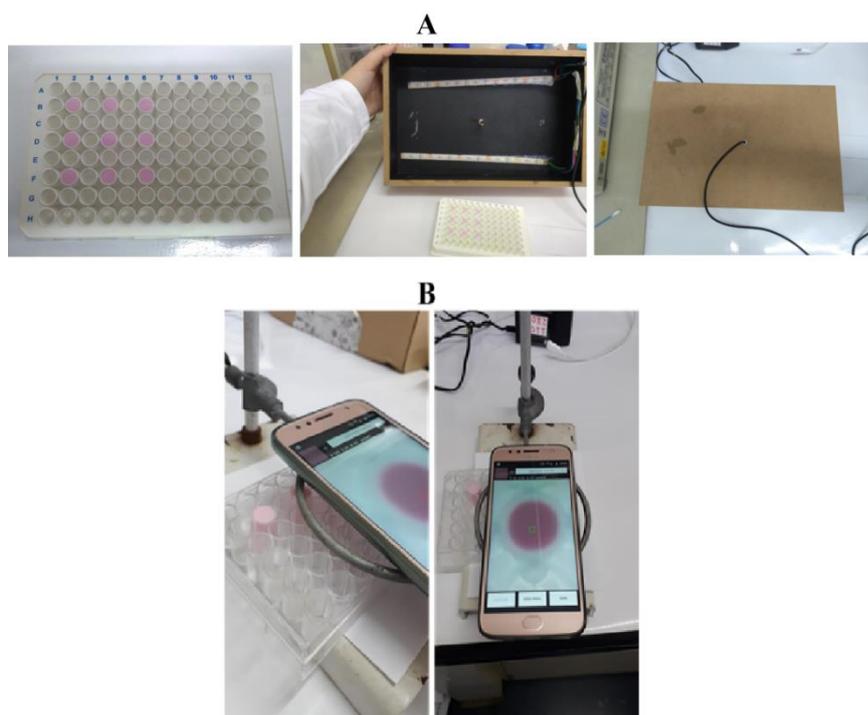
$$\Delta E^* = \sqrt{(\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2 + (\Delta c^*)^2} \quad (6)$$

4.6.2 Aplicativo de análise colorimétrica - Photometrix

Para tratamento das imagens digitais foi utilizado o aplicativo PhotoMetrix UVC, disponível gratuitamente na Play Store em um *smartphone* Samsung J7 Duo operando com Android 8.0.0, no modo de análise univariada de múltiplos canais. Foi acoplada ao celular uma câmera endoscópica AN99 para aquisição das imagens de forma controlada em um sistema de caixa preta com iluminação de LED (duas tiras de LED com 15 lâmpadas cada, com intensidade controlada por aplicativo) e um porta amostra conforme a Figura 6, sendo a região de interesse de aquisição de imagem de 64x64 *pixels*. A luminosidade incidente na amostra foi medida utilizando um solarímetro modelo SL 200 (KIMO) sendo igual a 1 W.m⁻². Também foi feita a aquisição de imagens sem controle de luz, diretamente com a câmera de um *smartphone* Motorola modelo Moto G5s Plus operando com Android 8.1.0 e utilizando o aplicativo PhotoMetrix PRO, também disponível gratuitamente na Play Store.

Após quantificação do teor de betanina nas microcápsulas por HPLC-DAD, a microcápsula M10 foi adicionada em diferentes concentrações no iogurte natural e a curva de calibração foi obtida. As amostras, após aquisição de imagem em triplicata, foram submetidas à curva de calibração no canal com melhor ajuste.

Figura 6. Aparato para aquisição de imagem com controle de luz (A) e sem controle de luz (B)



4.7 Análise Estatística

Os resultados foram computados por Análise de Variância (ANOVA) e teste de comparação de médias de Tukey, ao nível de 5% de significância, através do software Statistica 12.0.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização das microcápsulas

5.1.1 Umidade e atividade de água

Os valores de umidade de atividade de água são apresentados na Tabela 1. Em relação a esses parâmetros, todas as microcápsulas se mostraram microbiologicamente seguras para aplicação em alimentos, uma vez que apresentam $a_w < 0,6$. Os baixos valores de umidade inducam uma secagem eficiente.

5.1.2 Rendimento

Pela Tabela 1 pode-se observar que o aumento da quantidade de material de parede (de 10% para 20%) não acarretou em um aumento no rendimento conforme já havia sido apresentado por Lee; Wu; Siow, 2013. Sendo assim, a produção da M10 é mais viável pois utiliza uma quantidade menor de material para um rendimento próximo ao obtido pela M20.

O rendimento da microcápsula obtida a partir do extrato da casca da pitaya vermelha foi menor que os outros pois grande parte do volume de extrato inserido no *spray-dryer* não foi atomizado, sendo perdido na câmara de secagem. A temperatura utilizada para atomização foi inferior à utilizada por Bakar *et al.* (2013) para secagem do extrato da casca de pitaya (165 °C), o que pode ter contribuído para o baixo rendimento pois componentes da casca como a mucilagem podem mudar as propriedades do extrato em relação ao extrato da polpa da fruta.

5.1.3 Cor e conteúdo de betanina

Os parâmetros de cor e quantidade de betanina por grama de microcápsula são apresentados na Tabela 1. O parâmetro de cor L^* , que indica a luminosidade da cor, foi maior aumentando a quantidade de material de parede para as microcápsulas obtidas a partir do extrato da polpa da pitaya vermelha, indicando uma cor mais clara, devido à cor branca do material de parede. Os parâmetros a^* e b^* foram maiores para a microcápsula com 10% de maltodextrina, indicando uma cor magenta, como pode ser observado na Figura 7, explicada pela maior quantidade de

betanina presente por grama de microcápsula ($701,2 \pm 2,4 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) em relação à microcápsula de com 20% de maltodextrina ($399,6 \pm 28,3 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$). O valor encontrado para a M20 foi próximo ao encontrado por Tze *et al.* (2012) para a mesma quantidade de material de parede ($447,2 \pm 1,5 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), que também observou o aumento no parâmetro L^* e diminuição do conteúdo de betanina com o aumento da quantidade de material de parede. Assim, aumentar a quantidade de material de parede influencia na aplicação da microcápsula como corante pois é necessária uma quantidade maior da microcápsula com 20% de maltodextrina (M20) para produzir a mesma cor que a com 10% de maltodextrina (M10).

Tabela 1. Características físicas e químicas das microcápsulas.

Parâmetro	M10	M20	MC10
Umidade (%)	$3,86 \pm 0,08^a$	$1,83 \pm 0,07^b$	$1,15 \pm 0,02^c$
Atividade de água (a_w)	$0,210 \pm 0,08^a$	$0,080 \pm 0,005^b$	$0,158 \pm 0,01^c$
Rendimento (%)	33,6	29,6	8,6
L^*	$30,60 \pm 0,18^a$	$42,14 \pm 0,59^b$	$43,64 \pm 0,01^c$
a^*	$33,48 \pm 0,11^a$	$29,29 \pm 0,39^b$	$24,45 \pm 0,01^c$
b^*	$-12,47 \pm 0,06^a$	$-10,71 \pm 0,13^b$	$-8,15 \pm 0,01^c$
Chroma (C_{ab})	$35,73 \pm 0,12^a$	$31,18 \pm 0,40^b$	$25,77 \pm 0,01^c$
Ângulo Hue ($^\circ$)	$339,58 \pm 0,02^a$	$339,91 \pm 0,09^b$	$341,57 \pm 0,02^c$
Betanina ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	$701,2 \pm 2,4^a$	$399,6 \pm 28,3^b$	$176,2 \pm 3,0^c$
Span	$1,20 \pm 0,02^a$	$1,26 \pm 0,05^a$	-
D[4,3] (μm)	$9,4 \pm 0,1^a$	$9,0 \pm 0,3^a$	-

M10: microcápsula com 10% de maltodextrina obtida com a polpa da pitaya vermelha; M20: microcápsula com 20% de maltodextrina obtida com a polpa da pitaya vermelha; MC10: microcápsula com 10% de maltodextrina obtida com a casca da pitaya vermelha.

Valores da média _ desvio padrão. Valores com letras diferentes na mesma linha apresentam diferença ($P < 0,05$) (teste de Tukey).

Fonte: Autora.

A microcápsula obtida com o extrato da casca da pitaya vermelha apresentou uma cor de tonalidade mais clara (menor L^* , a^* e b^*) que as obtidas com a polpa, o que pode ser explicado pela quantidade menor de betanina encapsulada ($176,2 \pm 3,0 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), diminuindo seu potencial como corante.

Figura 7. Microcápsulas do extrato de pitaya vermelha



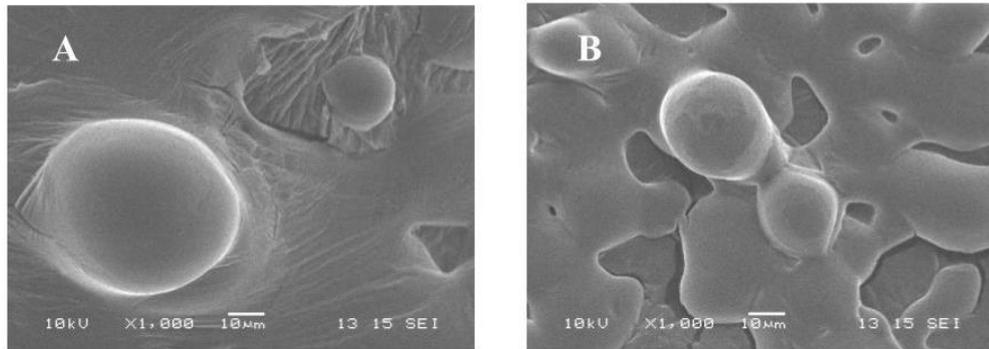
M10: microcápsula com 10% de maltodextrina obtida com a polpa da pitaya vermelha; M20: microcápsula com 20% de maltodextrina obtida com a polpa da pitaya vermelha; MC10: microcápsula com 10% de maltodextrina obtida com a casca da pitaya vermelha.

Fonte: Autora.

5.1.4 *Tamanho de partícula e microscopia eletrônica de varredura*

Os diâmetros encontrados para os encapsulados são apresentados na Tabela 1 e estão de acordo o tamanho de uma microcápsula (entre 5 e 300 μm de diâmetro) (GIBBS *et al.*, 1999). A adição de uma quantidade maior de material de parede não influenciou no diâmetro de partícula e também não alterou a polidispersidade (span), não havendo diferença significativa desses parâmetros com 10% ou 20% de maltodextrina. Com a análise de microscopia eletrônica de varredura foram obtidas as imagens da Figura 8, mostrando o formato esférico das microcápsulas, similar ao encontrado por outros autores para microcápsulas de pitaya secas por *spray-drying* (LEE; WU; SIOW, 2013; TZE *et al.*, 2012)

Figura 8. Imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura das microcápsulas do extrato de pitaya vermelha



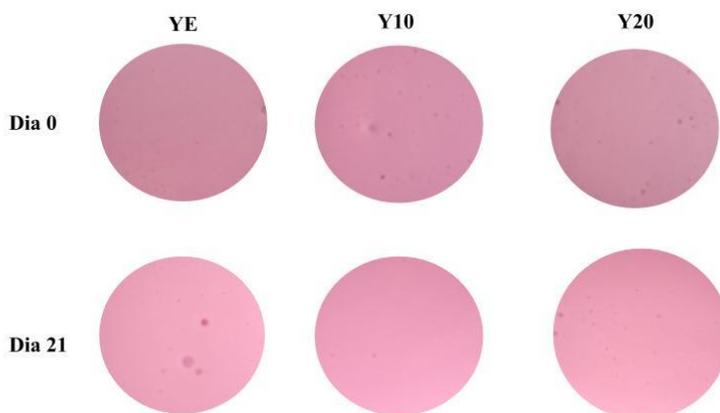
A: microcápsula com 10% de maltodextrina obtida com a polpa da pitaya vermelha; B: microcápsula com 20% de maltodextrina obtida com a polpa da pitaya vermelha.

Fonte: Autora.

5.2 Avaliação da estabilidade e quantificação de betanina em iogurte natural

Para obter uma coloração inicial similar entre os iogurtes Y10 e Y20 foi feito o cálculo para obter a mesma concentração de betanina baseado no conteúdo de cada microcápsula, porém a quantidade de M20 necessária na prática foi maior que a calculada, sendo assim os iogurtes não tiveram o mesmo conteúdo inicial de betanina. Por esse motivo não pôde ser feita quantificação dos iogurtes com M20 e com extrato sem encapsulação (YE) pois as concentrações de betanina em ambos não correspondem à cor da curva de calibração do PhotoMetrix, uma vez que ela foi preparada com a M10. Para quantificação de betanina no Y20 e YE seria necessário a preparação de curvas de calibração adicionais preparadas com M20 e extrato. Assim, foi feita apenas análise da variação do valor inicial para o Y20 e YE. As cores iniciais e finais são apresentadas na Figura 9. A microcápsula MC10 não foi aplicada devido ao seu baixo rendimento e cor mais fraca, que tornaria sua aplicação mais cara devido ao custo de produção e necessidade de uma quantidade maior para obtenção da cor desejada.

Figura 9. Iogurtes nos dias inicial e final da análise



Y10: iogurte com microcápsula 10% de maltodextrina obtida com a polpa da pitaya vermelha; Y20: iogurte com microcápsula 20% de maltodextrina obtida com a polpa da pitaya vermelha.

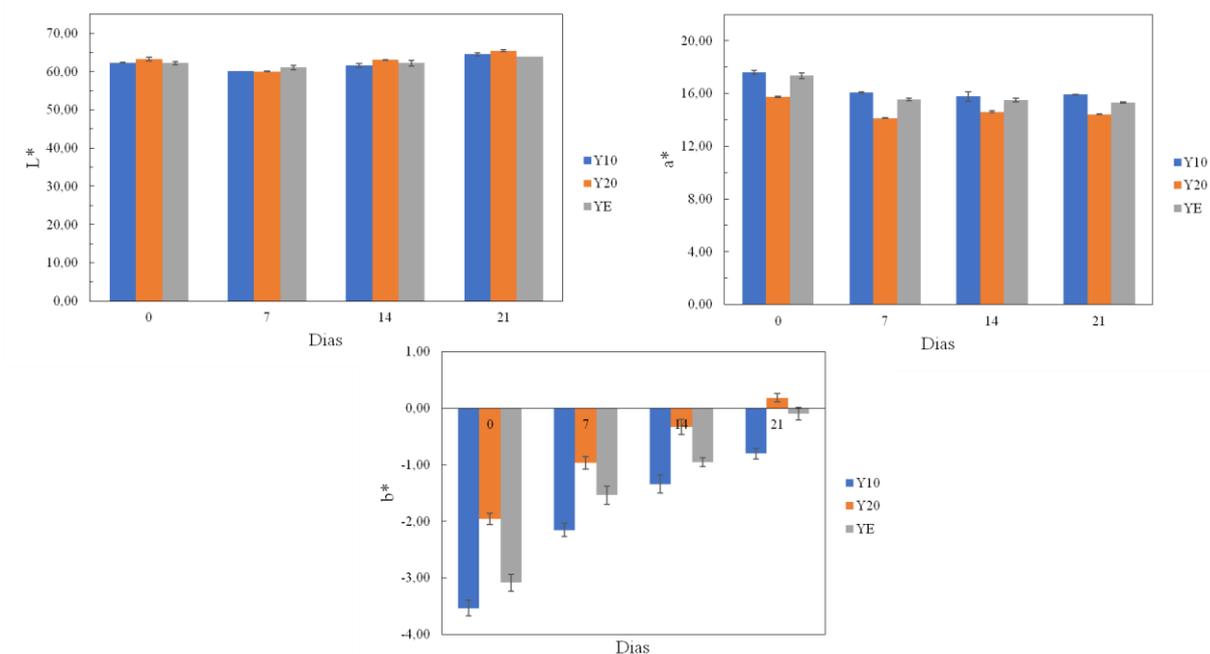
Fonte: Autora.

5.2.1 Avaliação da estabilidade por colorímetro

Ao longo de 21 dias foi feita uma leitura semanal dos parâmetros de cor L^* , a^* e b^* para cada um dos três iogurtes para avaliar a degradação do pigmento. A variação desses parâmetros está representada nos gráficos da Figura 10.

O parâmetro L^* aumentou ao longo dos 21 dias de análise indicando um aumento da luminosidade que pode ser observado nas fotos da Figura 9, enquanto o parâmetro b^* foi ficando menos negativo, diminuindo a tonalidade azul. Ao longo dos dias houve diminuição do parâmetro a^* para todas as amostras, indicando uma tonalidade menos avermelhada, exceto para o dia 14 onde houve um leve aumento para Y20. Se a redução do parâmetro a^* passados os 21 for tomada como indicativo da estabilidade do corante natural, temos que as perdas para as três amostras foram semelhantes sendo $11,84 \pm 0,91$ % para iogurte YE, $9,58 \pm 0,90$ % para Y10 e $8,44 \pm 0,16$ % para Y20 (Tabela 2). As perdas para Y10 e Y20 não apresentaram diferença estatística enquanto o iogurte com extrato puro (YE) mostrou uma perda maior, de acordo com o esperado para o composto livre.

Figura 10. Parâmetros de cor (L^* , a^* , b^*) ao longo dos dias de análise



Y10: iogurte com microcápsula 10% de maltodextrina obtida com a polpa da pitaya vermelha; Y20: iogurte com microcápsula 20% de maltodextrina obtida com a polpa da pitaya vermelha; YE: iogurte com extrato da polpa da pitaya vermelha.

Fonte: Autora.

A diferença global de cor (ΔE^*), foi de 3,91 para Y10, 3,39 para Y20 e 4,02 para YE mostrando que a diferença de cor pode ser distinguida mas ainda é menor que 5 onde a diferença de cor é evidente. Obón *et al.* (2009) aplicou o corante extraído da *Opuntia stricta* em iogurte e a diferença global de cor após um mês de armazenamento foi 4,56, próximo ao resultado obtido nesse trabalho. Assim, é possível aplicar o corante extraído da pitaya vermelha em iogurte, levando em conta que a cor ainda será adequada quando o iogurte for aberto e consumido pelo consumidor.

O extrato com pigmento livre de encapsulação pode ter se mantido estável devido ao pH do iogurte, que permaneceu com o valor inicial de 4 durante os dias de análise, sendo um pH em que as moléculas de betalaínas são estáveis. Porém, o uso de um corante líquido pode afetar as propriedades físicas de alguns alimentos, podendo não ser adequado para todos os tipos de aplicações. Os iogurtes onde foram aplicadas as microcápsulas se mostraram mais estáveis, o que pode ser atribuído pela encapsulação das moléculas de betalaínas, deixando-as mais protegidas.

Tabela 2. Redução da concentração inicial de betanina nos iogurtes medida por PhotoMetrix com e sem controle de luz e redução do parâmetro a^* medido por colorímetro.

Método	Redução (%)		
	Y10	Y20	YE
Photometrix com controle de luz	3,31 ± 0,29 ^a	7,65 ± 1,84 ^b	6,60 ± 0,01 ^b
Photometrix sem controle de luz	28,54 ± 2,67 ^a	18,22 ± 4,50 ^b	34,79 ± 2,69 ^a
Colorímetro	9,58 ± 0,90 ^a	8,44 ± 0,16 ^a	11,84 ± 0,91 ^b

Y10: iogurte com microcápsula 10% de maltodextrina obtida com a polpa da pitaya vermelha; Y20: iogurte com microcápsula 20% de maltodextrina obtida com a polpa da pitaya vermelha; YE: iogurte com extrato da polpa da pitaya vermelha.

Valores da média _ desvio padrão. Valores com letras diferentes na mesma linha apresentam diferença (P < 0,05) (teste de Tukey).

Fonte: Autora.

5.2.2 Avaliação da estabilidade e quantificação por PhotoMetrix com controle de luz

As capturas das imagens digitais utilizando câmera endoscópica em um sistema isolado foram feitas com luz de LED branca e amarela para determinar a melhor condição para obtenção. O canal com melhor ajuste, equação linear, r^2 e recuperação para uma amostra de concentração conhecida são apresentadas na Tabela 3. Com base na recuperação as análises de estabilidade (Y10, Y20, YE) e quantificação (Y10) de betanina foram feitas com luz de LED amarela utilizando o canal L.

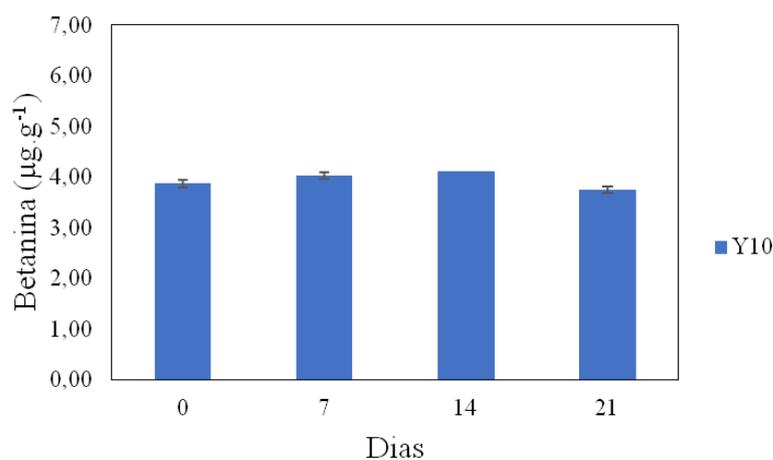
Tabela 3. Parâmetros da curva de calibração e recuperação para cada sistema de aquisição de imagem.

Parâmetro	Luz branca	Luz amarela	Sem controle de luz
Canal	B	L	V
Equação linear	$y = 7,113x + 31,676$	$y = 0,014x + 0,140$	$y = 0,020x + 0,569$
r^2	0,995	0,993	1,000
Recuperação (%)	$76,08 \pm 9,09$	$91,87 \pm 3,35$	$93,59 \pm 4,78$

Fonte: Autora.

A concentração de betanina ao longo dos dias é apresentada no gráfico da Figura 11 e é possível verificar que a concentração mostrou-se estável ao longo dos dias de análise.

Figura 11. Concentração de betanina ao longo dos dias de análise por PhotoMetrix com controle de luz



Y10: iogurte com microcápsula 10% de maltodextrina obtida com a polpa da pitaya vermelha.

Fonte: Autora

Apesar de não ser possível a quantificação dos outros iogurtes foi feita a comparação do valor inicial medido pelo aplicativo e a variação desse valor decorridos 21 dias, apresentando um indicativo da perda de betanina. As perdas finais para os iogurtes YE e Y20 não apresentaram diferença significativa, apresentando perdas maiores que o Y10 (Tabela 2).

Porém, no último dia de análise quando foi medida a concentração do branco para cálculo dos limites de detecção e de quantificação, o valor do branco foi muito alto, cerca de metade do valor das amostras, indicando que o sistema não estava reprodutível em relação com o primeiro dia quando foi feita a curva de calibração. Assim, os resultados podem não ser confiáveis, o que é evidenciado pelos valores de redução do parâmetro a^* que mostram uma perda maior para o YE e uma estabilidade semelhante para Y10 e Y20.

As dificuldades encontradas para aquisição de imagem no sistema utilizado foram o reflexo da luz de LED na superfície da amostra e a influência da altura de iogurte no porta amostra, que também acarretava em reflexos e diferenças no valor das repetições. Uma solução seria fazer a aquisição de imagem em um sistema que não capture a imagem por cima e sim pela lateral de uma cubeta, evitando problemas devido à diferença de altura entre uma triplicata e outra. Como foi a primeira vez que o sistema foi empregado para uma amostra sólida e com características que causam reflexão de luz, não há resultados para comparação com esse trabalho.

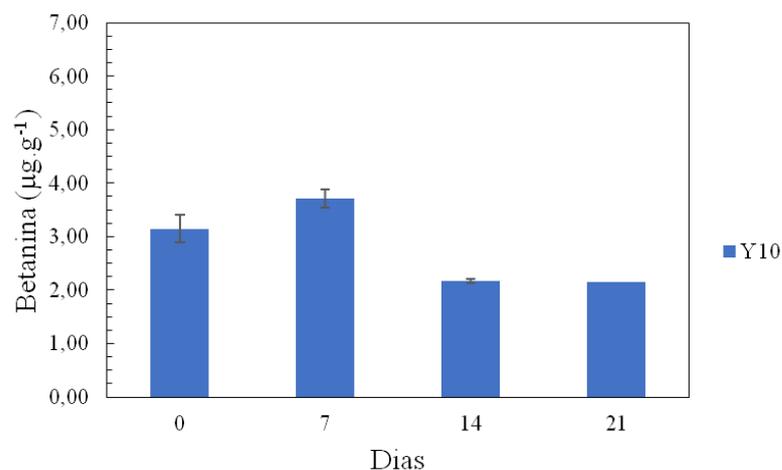
5.2.3 Avaliação da estabilidade e quantificação por PhotoMetrix sem controle de luz

O canal com melhor ajuste, equação linear, r^2 e recuperação para uma amostra de concentração conhecida para capturas de imagens digitais utilizando diretamente a câmera de um *smartphone* sem controle da luz ambiente são apresentadas na Tabela 3. O canal V foi então utilizado para as análises de estabilidade (Y10, Y20, YE) e quantificação (Y10) de betanina.

A concentração de betanina ao longo dos dias é apresentada no gráfico da Figura 12 e é possível verificar um pequeno aumento na concentração no 7º dia, possivelmente devido à alguma instabilidade no sistema, e após o 7º dia vemos a queda na concentração de betanina.

Apesar de também não ser possível a quantificação dos outros iogurtes foi feita a comparação do valor inicial medido pelo aplicativo e a variação desse valor decorridos 21 dias, apresentando um indicativo da perda de betanina (Tabela 2). As perdas finais para os iogurtes Y10 e YE não apresentaram diferença significativa, sendo maiores que a perda do iogurte Y20. Os resultados também não são compatíveis com os obtidos pela análise da diminuição do parâmetro a^* que mostra estabilidade semelhante para as microcápsulas e menor estabilidade para o extrato livre.

Figura 12. Concentração de betanina ao longo dos dias de análise por PhotoMetrix sem controle de luz



Y10: iogurte com microcápsula 10% de maltodextrina obtida com a polpa da pitaya vermelha.

Fonte: Autora

Mas também, no último dia de análise quando foi medida a concentração do branco para cálculo dos limites de detecção e de quantificação, o valor do branco foi negativo, cerca de -1, indicando que o sistema não estava estável em relação com o primeiro dia quando foi feita a curva de calibração, o que é esperado por haver diferenças da luz ambiente dependendo do dia (ensolarado, nublado). Não houve interferência da reflexão de luz na superfície do iogurte, como é possível observar na Figura 6, uma vez que o smartphone estava bem próximo ao iogurte e não foi utilizado o flash.

6. ANÁLISE DE CUSTOS

A avaliação de custos foi feita em relação ao método de produção, ao custo de reagentes para produção, em relação ao preço do corante comumente utilizado em iogurte e em relação ao preço da betanina (extraída de beterraba e diluída em dextrina) comercialmente disponível. Para avaliação da estabilidade foram comparados os preços dos equipamentos utilizados ou que poderiam ser utilizados.

6.1 Métodos de produção

Dentre os métodos de produção de corantes termossensíveis destacam-se a liofilização (*freeze-drying*) e *spray-drying* (DESSAI; PARK, 2005). Para frutas, que contém alto teor de

açúcares a liofilização não é indicada pois forma um material muito poroso e que necessita de mais cuidados (e tem um maior custo) na estocagem (AUGUSTIN; HEMAR, 2009; BHANDARI; DATTA; HOWES, 1997). Além disso, o custo da liofilização é de 30 a 50 vezes maior que o do *spray-drying*, uma vez que necessita da amostra congelada e do uso de baixas pressões e também por necessitar de um maior tempo de produção (ABDELWAHED *et al.*, 2006; DESOBRY; NETTO; LABUZA, 1997). Dessa forma, o método de secagem por *spray-drying* é o mais indicado para esse tipo de matriz (fruta) para obter um produto com menor custo.

6.2 Reagentes e corantes comerciais

Os reagentes necessários para a extração e encapsulação das betalaínas são o ácido cítrico e a maltodextrina DE20. Para produção de 30 g de pó com 10 % de material de parede (M10), partindo de 1 kg de polpa e levando em conta o rendimento descrito anteriormente temos o preço apresentado na Tabela 4.

Tabela 4. Dados para a análise de custo da produção de 30 g de corante em pó com 10% de maltodextrina (M10).

Reagente	Preço (R\$/kg)	Quantidade utilizada (g)	Custo (R\$/30 g)*
Ácido cítrico	35,67	10	0,3567
Maltodextrina DE20	400	100	40,00
Total			40,36

*reais por 30 gramas de corante em pó.

M10: microcápsula com 10% de maltodextrina obtida com a polpa da pitaya vermelha

Fonte: Autora.

Assim, custa R\$ 40,36 para produzir 30 g de corante ou R\$ 1,34 por grama. Para obter a mesma cor inicial do Y10 são necessários 0,75 gramas de M10 em 150 g de iogurte (1 pote), podendo ser produzidos 40 potes com 30 g de M10, tendo o custo de R\$ 1,01 por pote, sem considerar custos energéticos de produção.

O vermelho 40 é um corante muito utilizado em iogurtes e tem o custo de aproximadamente R\$ 0,10 por grama de corante, pesquisado no site Ingredientes Online, sendo um preço bem

abaixo do corante natural. Já a betanina extraída da beterraba tem o preço de R\$ 260,00 por grama (Sigma-Aldrich) mas é vendida como padrão e não como corante (Tabela 5). Não foram comparadas as quantidades necessárias de cada um desses corantes para obtenção da cor inicial do Y10.

Apesar do corante natural produzido ser mais caro que o corante sintético normalmente utilizado (vermelho 40), o apelo de cada um no produto final é diferente, pois produtos naturais são geralmente de maior custo e o consumidor que está interessado em um produto com menos aditivos artificiais paga o preço mais elevado. A betanina extraída da beterraba tem preço muito superior ao do corante produzido com pitaya, sendo mais viável a aplicação deste último para não elevar o valor do produto em que for aplicado.

Tabela 5. Preço dos corantes

Corante	Preço (R\$/g)
Pitaya	1,34
Beterraba	260,00
Vermelho 40	0,10

Fonte: Autora.

6.3 Equipamentos para avaliação da estabilidade

Para avaliação da estabilidade podem ser utilizados o colorímetro, um espectrofotômetro ou um *smartphone*. Os preços dos equipamentos são apresentados na Tabela 6. O preço do espectrofotômetro e do colorímetro foram os preços pagos quando os mesmos foram adquiridos pela universidade e registrados no número de patrimônio. O preço do *smartphone* é o preço médio nas maiores lojas *on-line*, pesquisado em junho de 2019.

O colorímetro é o instrumento mais prático para análise de cor porém é o mais caro, enquanto o espectrofotômetro necessita de uma etapa extra de extração dos analitos da amostra. Já o *smartphone* é sem dúvida o instrumento mais barato para análise de estabilidade da betanina através do uso do aplicativo PhotoMetrix, que é grátis, e com os devidos ajustes no método pode inclusive quantificar a substância.

Tabela 6. Preço dos equipamentos utilizados para avaliação da estabilidade

Equipamento	Preço (R\$/kg)
Colorímetro	41420,00
Espectrofotômetro	27438,09
<i>Smartphone</i>	999,00

Fonte: Autora.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Utilizando a polpa da pitaya vermelha foi possível produzir um corante em pó com rendimento de 33,6% utilizando 10% de maltodextrina como material de parede e com 26,6% de rendimento utilizando 20% de maltodextrina como material de parede. O pó com menor quantidade de material de parede apresentou uma cor magenta mais intensa que a cor rosa do pó com mais material de parede, uma vez que também possuía uma maior quantidade de betanina por grama de pó. Ambos apresentaram diâmetro de partícula em torno de 9 μm , caracterizando-os como microcápsulas e apresentaram formato esférico através da análise de microscopia eletrônica de varredura. O corante produzido utilizando a casca da fruta e 10% de material de parede teve um rendimento inferior, 8,6% e apresentou uma cor rosa um pouco mais clara que o corante obtido com a polpa e 20% de material de parede. Devido ao seu baixo rendimento ele não foi aplicado no iogurte pois seria menos viável economicamente que os outros dois. Para otimizar o rendimento seria necessário o estudo das melhores condições de obtenção do pó, aumentando a temperatura do ar de secagem por exemplo para evitar as perdas que ocorreram.

As microcápsulas obtidas com a polpa da pitaya vermelha e o extrato puro sem atomização foram aplicados em iogurte natural e tiveram sua estabilidade avaliada ao longo de 21 dias, monitorando o parâmetro a^* (indicativo da cor vermelha) no colorímetro e a diminuição da concentração de betanina no aplicativo PhotoMetrix com aquisição de imagem com e sem controle de luz. Pelo colorímetro foi possível observar uma maior perda de cor no iogurte com o extrato sem encapsulação, como esperado, e uma estabilidade semelhante para os iogurtes com o corante encapsulado, possivelmente por estar mais protegido em relação ao extrato livre. Todos os iogurtes apresentaram diferença global de cor menor que 5, mostrando que podem ser aplicados em iogurte sem que haja mudança evidente de cor após 21 dias de armazenamento. Assim, se torna mais viável a produção e aplicação da microcápsula com 10% de material de parede por apresentar estabilidade e rendimento semelhantes à de 20%, utilizar uma quantidade menor de reagentes e apresentar uma cor mais intensa necessitando menor quantidade de pó para obtenção da cor desejada.

Com o aplicativo, a curva obtida com controle de luz empregando um sistema fechado com luz de LED amarela obteve boa linearidade e recuperação de uma amostra com concentração conhecida bem como quando foi feita aquisição de imagem sem controle de luz. Foi possível apenas a quantificação do iogurte onde foi aplicada microcápsula com 10% de maltodextrina pois a curva de calibração foi obtida pela diluição de diferentes concentrações desse corante em

iogurte, e como a cor (que é a variável analisada nesse método de análise) não foi a mesma para a mesma quantidade de betanina do pó com 20% de maltodextrina, não foi possível a quantificação dessa amostra bem como para o iogurte com extrato pelo mesmo motivo. Assim, para controle da estabilidade foi avaliada apenas a diminuição do valor inicial para esses dois iogurtes, sem quantificar a betanina.

Entre os dois sistemas testados (com e sem controle de luz) houveram diferenças em relação a estabilidade, sendo que quando avaliado com controle de luz o iogurte com 20% de material de parede e o iogurte com extrato puro foram os que tiveram maior perda, e sem controle de luz o iogurte com 20% de material de parede teve a menor perda. Ambos os resultados diferem dos obtidos pelo colorímetro. Para aprimorar os sistemas de aquisição de imagem sem controle de luz mais estudos devem ser feitos como leitura de um padrão e do branco a cada dia de análise para garantir a estabilidade do sistema e determinar os limites de quantificação e de detecção. Já com controle de luz uma possível solução para os problemas seria realizar a aquisição de imagem pela lateral de uma cubeta, evitando a reflexão que ocorre na superfície do iogurte e as interferências pela diferença de altura entre as replicatas. Além disso, para garantir a correta quantificação nos diferentes tempos de análises, como perspectivas futuras temos a correlação do valor medido pelo PhotoMetrix com o valor medido por HPLC-DAD, que não foi possível devido à indisponibilidade do equipamento de uso coletivo para análise semanal.

8. REFERÊNCIAS

- ABDELWAHED, W. *et al.* Freeze-drying of nanoparticles: Formulation, process and storage considerations. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 58, n. 15, p. 1688–1713, 2006.
- AGUILAR-TUESTA, S. *et al.* Microencapsulated betacyanin from colored organic quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.): optimization, physicochemical characterization and accelerated storage stability. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 98, n. 15, p. 5873–5883. Dec. 2018.
- AOAC. *Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. 15th edition. Washington, DC, Association of Official Analytical Chemists, 1990.
- AUGUSTIN, M. A.; HEMAR, Y. Nano- and micro-structured assemblies for encapsulation of food ingredients. **Chem. Soc. Rev.**, v. 38, n. 4, p. 902–912, 2009.
- AZEREDO, H. M. C. Encapsulação: aplicação à tecnologia de alimentos. **Alimentação e Nutrição, Araraquara**, v. 16, n. 1, p. 89–97, 2005.
- AZEREDO, H. M. C. Betalains: Properties, sources, applications, and stability - A review. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 44, n. 12, p. 2365–2376, 2009.
- BAKAR, J. *et al.* Physico-chemical characteristics of red pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) peel. **International Food Research Journal**, v. 18, n. 1, p. 279–286, 2011.
- BAKAR, J. *et al.* Spray-Drying Optimization for Red Pitaya Peel (*Hylocereus polyrhizus*). **Food and Bioprocess Technology**, v. 6, n. 5, p. 1332–1342, 2013.
- BHANDARI, B. R.; DATTA, N.; HOWES, T. Problems Associated With Spray Drying Of Sugar-Rich Foods. **Drying Technology**, v. 15, n. 2, p. 671–684, 1997.
- BOYD, W. Ingredients update: what's new with natural colourants? **Cereal Foods World**, 43, 720–722. 1998
- CAI, Y. Z.; CORKE, H. Amaranthus Betacyanin Pigments Applied in Model Food Systems. **Journal of Food Science**, v. 64, n. 5, p. 869–873, 1999.
- CAI, Y. Z.; SUN, M.; CORKE, H. Characterization and application of betalain pigments from plants of the Amaranthaceae. **Trends in Food Science and Technology**, v. 16, n. 9, p. 370–376, 2005.
- CHIA, S. L.; CHONG, G. H. Effect of rotation speed and steam pressure on physico-chemical properties of drum dried pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) peel. **International Food Research Journal**, v. 22, n. 1, p. 372–376, 2015.
- CORANTE VERMELHO ALLURA 40. Disponível em:
<<https://www.ingredientesonline.com.br/corante-vermelho-allura-40-23068>>. Acesso em 14 junho 2019.

DE ANDRADE, R. A.; MARTINS, A. B. G.; SILVA, M. T. H. Development of seedlings of red pitaya (*Hylocereus undatus* Haw) in different substrate volumes. **Acta Scientiarum - Agronomy**, v. 30, n. 5 SUPPL, p. 697–700, 2008.

DE VOS, P. *et al.* Encapsulation for preservation of functionality and targeted delivery of bioactive food components. **International Dairy Journal**, v. 20, p. 292–302, 2010.

DESOBRY, S.; NETTO, F. M.; LABUZA, T. P. Comparison of spray-drying, drum-drying and freeze-drying for β -carotene encapsulation and preservation. **Journal of Food Science**, v. 62, n.6, p. 1158–1162, 1997.

DESSAI, K. G. H.; PARK, H. J. Recent Developments in Microencapsulation of Food Ingredients. **Drying Technology: An International Journal**, v. 23, n. 7, p. 1361–1394, 2005.

DOWNHAM, A; COLLINS, P. Colouring our foods in the last and next millennium. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 35, p. 5–22, 2000.

ETXABIDE, A. *et al.* Development of active gelatin films by means of valorisation of food processing waste: A review. **Food Hydrocolloids**, v. 68, p. 192–198, 2017.

GALANAKIS, C. M. Recovery of high added-value components from food wastes: Conventional, emerging technologies and commercialized applications. **Trends in Food Science and Technology**, v. 26, n. 2, p. 68–87, 2012.

GARCÍA-CRUZ, L. *et al.* Physical, Chemical, and Antioxidant Activity Characterization of Pitaya (*Stenocereus pruinosus*) Fruits. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 68, n. 4, p. 403–410, 2013.

GENGATHARAN, A.; DYKES, G. A.; CHOO, W.-S. The effect of pH treatment and refrigerated storage on natural colourant preparations (betacyanins) from red pitahaya and their potential application in yoghurt. **LWT - Food Science and Technology**, v. 80, p. 437–445, 2017.

GIBBS, B. F. *et al.* Encapsulation in the food industry: a review. **International journal of food sciences and nutrition**, v. 50, n. 3, p. 213–224, 1999.

GONÇALVES, L. C. P. *et al.* Effect of dielectric microwave heating on the color and antiradical capacity of betanina. **Journal of Food Engineering**, v. 118, p. 49–55, 2013.

HANSEN, C. The advantages of natural colours in food products. **Food Marketing and Technology February**, 99, 12–15. 1999.

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

HUANG, A. S.; 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.

IAHNKE, A. O. E. S. *et al.* Antioxidant films based on gelatin capsules and minimally processed beet root (*Beta vulgaris* L. var. *Conditiva*) residues. **Journal of Applied Polymer**

Science, v. 133, n. 10, p. 1–10, 2016.

IZAGUIRRES *et al.* Effects of the addition of sugars on the thermostability of betanin from beta vulgaris l. **Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 35, n. 2, jul-dez. 2018, 8p.

JACKMAN, R.L.; SMITH, J.L. Anthocyanins and betalains. *In* **Natural food colourants** (edited by G.F. Hendry & J.D. Houghton). Londres: Blackie Academic & Professional, 1996. pp. 244–309.

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

KENYON, M. Modified Starch, Maltodextrin, and Corn Syrup Solids as Wall Materials for Food Encapsulation. **Encapsulation and Controlled Release of Food Ingredients**, v. 590, p. 42–50, 1995.

LEE, K. H.; WU, T. Y.; SIOW, L. F. Spray drying of red (*Hylocereus polyrhizus*) and white (*Hylocereus undatus*) dragon fruit juices: Physicochemical and antioxidant properties of the powder. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 48, n. 11, p. 2391–2399, 2013.

MARINHO, O. R. *et al.* A greener, fast, and cost-effective smartphone-based digital image procedure for quantification of ethanol in distilled beverages. **Microchemical Journal**, v. 147, p. 437–443, 2019.

MIZRAHI, Y.; NERD, A.; NOBEL, P. S. Cacti as Crops. *In* **Horticultural Reviews Volume 18**, John Wiley & Sons, Inc, p. 291–319, 1997.

MOHAMED, A. A.; SHALABY, A. A. Digital imaging devices as sensors for iron determination. **Food Chemistry**, v. 274, p. 360–367, 2019.

MOLINA, R. *et al.* Physical Evaluation and Hygroscopic Behavior of Dragon Fruit (*Hylocereus undatus*) Lyophilized Pulp Powder. **Drying Technology**, v. 32, n. 16, p. 2005–2011, 2014.

MORENO, D. A. *et al.* Betalains in the era of global agri-food science, technology and nutritional health. **Phytochemistry Reviews**, v. 7, n. 2, p. 261–280, 2008.

NADERI, N. *et al.* Characterization and quantification of dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) betacyanin pigments extracted by two procedures. **Pertanika Journal of Tropical Agricultural Science**, v. 35, n. 1, p. 33–40, 2012.

NAWIRSKA, A.; KWAŚNIEWSKA, M. Dietary fibre fractions from fruit and vegetable processing waste. **Food Chemistry**, v. 91, p. 221–225, 2005.

NEDOVIC, V. *et al.* An overview of encapsulation technologies for food applications. **Procedia Food Science**, v. 1, p. 1806–1815, 2011.

NERD, A.; MIZRAHI, Y. Reproductive biology of cactus fruit crops. *In* **Horticultural Reviews Volume 18**, John Wiley & Sons, Inc, p. 321–343, 1997.

- OBÓN, J. M. *et al.* Production of a red–purple food colorant from *Opuntia stricta* fruits by spray drying and its application in food model systems. **Journal of Food Engineering**, p. 471–479, 2009.
- ORTIZ, T. A.; TAKAHASHI, L. S. A. Physical and chemical characteristics of pitaya fruits at physiological maturity. **Genetics and Molecular Research**, v. 14, n. 4, p. 14422–14439, 2015.
- RAVICHANDRAN, K. *et al.* Effects of different encapsulation agents and drying process on stability of betalains extract. **Journal of Food Science and Technology**, v. 51, n. 9, p. 2216–2221, 2014.
- RUSS, J. C.; **The Image Processing Handbook**; CRC Press: Boca Raton, 2011. 817 p.
- 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.
- SANDATE-FLORES, L. *et al.* Evaluation of different methods for betanin quantification in pitaya (*Stenocereus* spp.). **Agro Food Industry Hi-Tech**, v. 27, n. 1, p. 20–24, 2016.
- SCHWEIGGERT, R. M. Perspective on the Ongoing Replacement of Artificial and Animal-Based Dyes with Alternative Natural Pigments in Foods and Beverages. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 66, p. 3074–3081, 2018.
- SHAHIDI, F.; HAN, X. Encapsulation of food ingredients. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 33, n. 6, p. 501–547, 1993
- SKOOG *et al.* **Fundamentos de Química Analítica, Tradução da 8ª Edição norte-americana**. São Paulo: Editora Thomson, 2006. 1124 p.
- SOSNIK, A; SEREMETA, K. P. Advantages and challenges of the spray-drying technology for the production of pure drug particles and drug-loaded polymeric carriers. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 223, p. 40-54, 2015.
- STINTZING, F. C.; CARLE, R. Functional properties of anthocyanins and betalains in plants, food, and in human nutrition. **Trends in Food Science and Technology**, v. 15, n. 1, p. 19–38, 2004.
- STOLL, L. *et al.* Microencapsulation of Anthocyanins with Different Wall Materials and Its Application in Active Biodegradable Films. **Food and Bioprocess Technology**, v. 9, n. 1, p. 172–181, 2016.
- STRACK, D.; VOGT, T.; SCHLIEMANN, W. Recent advances in betalain research. **Phytochemistry**, v. 62, n. 3, p. 247–269, 2003.
- TANG, C. S.; NORZIAH M H. Stability of betacyanin pigments from red purple pitaya fruit (*Hylocereus polyrhizus*): influence of pH, temperature, metal ions and ascorbic acid. **Indonesian Journal of Chemistry**, v. 7, n. 3, p. 327–331, 2007.

TREJO-TAPIA, G. *et al.* Beta Vulgaris L. Suspension Cultures Permeabilized with Triton X-100 Retain Cell Viability and Betacyanines Production Ability: A Digital Image Analysis Study. **Biotechnology Progress**, v. 23, n. 2, p. 359–363, 2007.

TZE, N. L. *et al.* Physicochemical and nutritional properties of spray-dried pitaya fruit powder as natural colorant. **Food Science and Biotechnology**, v. 21, n. 3, p. 675–682, 2012.

WIJNGAARD, H. H.; RÖBLE, C.; BRUNTON, N. A survey of Irish fruit and vegetable waste and by-products as a source of polyphenolic antioxidants. **Food Chemistry**, v.119, p. 202–207, 2009.

WONG, Y.-M.; SIOW, L.-F. Effects of heat, pH, antioxidant, agitation and light on betacyanin stability using red-fleshed dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) juice and concentrate as models. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 5, p. 3086–3092, 2015.

WU, L. *et al.* Antioxidant and antiproliferative activities of red pitaya. **Food Chemistry**, v. 95, n. 2, p. 319–327, 2006.