Extração de pigmentos bioativos do caule de beterraba vermelha e estudo de sua estabilidade

Cassandra de Deus, Simara Somacal, Thaiane Marques da Silva, Eduardo Jacob Lopes, Leila Queiroz Zepka, Cristiano Menezes

https://doi.org/10.4322/mp.978-65-994457-7-4.c1

Resumo

A beterraba é um vegetal comumente consumido e que apresenta em sua estrutura fisiológica partes aéreas (fora do solo) que não são utilizadas na alimentação humana, no entanto denotam de uma vasta quantidade de compostos bioativos de interesse. Nesse sentido, esse estudo teve como premissa investigar a extração de compostos pigmentados do caule da beterraba vermelha, a fim de avaliar sua estabilidade em diferentes condições de armazenamento. Para esse fim, utilizou-se de uma extração com água aquecida a 60°C para elevar a eficiência do processo de extração. Dentre as temperaturas de armazenamento testadas (25°C, 8°C congelamento (-18°C) foi a condição que melhor protegeu os pigmentos avermelhados, seguido da refrigeração, que auxiliou no atraso da degradação. Já a temperatura de 25°C foi a que mais se observou a perda da coloração do extrato, onde ao iniciar os testes apresentaram pigmentação avermelhada e após seis dias de análises ocorreu degradação da cor passado a um marrom/amarelado. Considerando os resultados obtidos nesse estudo, concluise que a extração de betalaínas do caule de beterraba foi eficiente, pois, apesar da utilização de técnicas naturais e o reaproveitamento de resíduos de alimentos, os resultados obtidos alcançaram superioridade ao esperado, consideração a matéria prima utilizada e a metodologia aplicada. Com isso, expande-se as possibilidades de utilizar matérias não convencionais para extrair pigmentos avermelhados, além de impactar diretamente na redução de poluentes no ecossistema.

Palavras-chave: Betalaínas, bioativos, degradação, subprodutos, reaproveitamento.



1. Introdução

A beterraba é um tubérculo mundialmente conhecido e consumido, com grandes benéficos à saúde comprovados (CHHIKARA et al., 2019; Bahrami et al., 2021). Possui uma composição rica em nutrientes e minerais, além de uma gama de compostos bioativos que corroboram com a melhora da saúde do consumidor (CARRILLO et al., 2019). A beterraba fisiologicamente é composta por raiz que é a parte comercializada e comestível, além de caule e folhas que acabam sendo um rejeito comercial, pois em sua maioria são destinados à alimentação animal ou utilizado como fertilizante orgânico (CHHIKARA et al., 2019; ZIN, MÁRKI e BÁNVÖLGYI, 2020). No entanto, o caule da beterraba é uma parte do vegetal em que há uma gama de compostos bioativos de extrema importância para promoção da saúde, além do grande potencial tecnológico aplicável (GALANAKIS, 2012). O caule desse vegetal é rico em betalaínas, pigmento responsável pela coloração vermelho-violeta da beterraba, sendo também apresentada com a coloração amarelo/alaranjado em outras plantas do reino vegetal (GUERRERO-RUBIO et al., 2020; DELGADO, JIMÉNEZ & LÓPEZ, 2000). Esse composto restrito a poucas espécies é sintetizado pelo ácido betalâmico derivado de aminoácidos como a tirosina, assim promovem uma solubilidade singular às betalaínas (MIGUEL, 2018; TOSSI et al, 2021). Como consequência dessas características fundamentais, os compostos pigmentados do caule da beterraba são de fácil extração com água, utilizando técnicas simples e que são benevolentes ao ecossistema, além de facilitar a aplicação em alimentos.

Assim, o emprego da água para a extração de compostos solúveis é eficiente, porém quando se faz uma elevação da temperatura desse meio aquoso para a obtenção de betalaínas, observa-se uma maior eficiência no processo (NIRMAL, MEREDDY e MAQSOOD, 2021). Portanto, esse estudo tem como objetivo principal, promover a extração de betalaínas do caule de beterraba utilizando tecnologias limpas e seguras, a fim de facilitar a aplicação em processos alimentícios.

2. Materiais e métodos

2.1. Preparo do extrato

O extrato do caule de beterraba vermelha foi obtido seguindo a metodologia de Omae *et al.* (2017), onde foi feita a separação manualmente dos caules seguida de higienização com NaCIO 2% (hipoclorito de sódio), posteriormente liofilizado por 24h, triturado em moinho de facas, em seguida o pó obtido foi congelado (-18°C) até o momento das análises. O extrato foi preparado na proporção 1:40 (m/v) com água destilada a uma temperatura de 60°C com uma agitação contínua por 20 segundos, na sequência, o extrato foi centrifugado sob refrigeração na condição de 4320 x g, 10°C por 15 minutos, por fim, o sobrenadante foi coletado e filtrado sob vácuo em papel filtro qualitativo (80 g m⁻¹), e o processo de extração repetiu-se por mais 3 vezes para máxima extração dos pigmentos do pó. Cada fração do extrato foi quantificada, a fim de determinar a necessidade desse processo.

2.2. Avaliação da degradação do extrato

Foram separadas alíquotas do extrato (primeira fração) e armazenadas em três diferentes temperaturas simulando um acondicionamento em ambiente (25°C), refrigeração (8°C) e congelamento (-18°C), ambas ao abrigo da luz. A quantificação total de betalaínas do extrato do caule de beterraba foi realizada seguindo o item 2.3 por 7 dias consecutivos.

2.3. Quantificação de Betalaínas totais

As betalaínas foram analisadas durante as extrações, por meio de leituras em espectrômetro em comprimentos de onda em 537 nm e 600 nm, assim as absorbâncias obtidas foram aplicadas em uma equação para calcular quantitativamente o teor de betalaínas totais presentes no extrato. Para analisar as betalaínas foi seguida a metodologia sugerida por (Herbach, Stintzing e Carle, 2004), onde a amostra foi diluída com solvente extrator (água) e quantificada em espectrofotômetro UV/VIS (Agilent 8453 UV-visible spectrophotometer), sendo calculada a partir da equação 1.

Betalaínas totais
$$(mg/L) = \frac{A \times DF \times MW \times 1000}{E \times L}$$
 Equação 1

Onde A é a absorção máxima a 536 nm, corrigida por absorção a 600 nm, DF é o fator de diluição, MW representa a massa molar de betanina (550 g mol⁻¹), E é a absorção molar (60.000 L moL.cm⁻¹) e L é o comprimento do caminho óptico (cm).

2.4. Análise estatística

Os testes foram realizados em triplicatas e os resultados foram avaliados por análise de variância (ANOVA), e as médias foram comparadas por teste de Tukey, considerando o nível de significância a 5% (p <0,05).

3. Resultados e discussão

3.1. Extração de betalaínas

As frações extraídas do caule de beterraba vermelhas com água a 60°C é expressa na figura 1. A etapa da extração que mais revela a diluição das betalaínas ao meio aquoso é a primeira, com 81% dos compostos pigmentados extraídos, seguida da segunda fração com 16% e na terceira fração com 3%. Esse resultado revela que, extrair mais de uma vez nesse caso não se faz necessário, pois levando em consideração o tempo de extração requeridas, a primeira fração já disponibiliza mais de 80% dos pigmentos de interesse.

Para um fim de aplicação em alimentos, a redução de tempo e de processos é interessante, pois possibilita ampliar as oportunidades de inserir novos ingredientes com baixo valor comercial em linha de produção industrial, assim há uma redução do desperdício de alimentos e ampliação da gama de produtos que promovam maior qualidade de vida a população. Os pigmentos extraídos do caule de beterraba podem ser inseridos em produtos como biscoitos, geleias, doces, vinho, batatas fritas, pós, bebida, sorvete e iogurte (Lisiecka, Wójtowicz, 2021; Wang et al., 2020; Dhiman et al., 2021; CHHIKARA et al., 2019; Araújo et al., 2021) a fim de enriquecer com saudabilidade esses produtos através das betalaínas e os compostos bioativos presentes, e por consequência contribuir com a cor (avermelhada) atrativa ao produto.

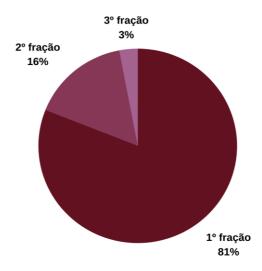
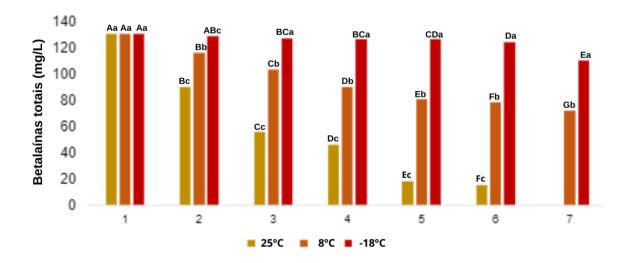


Figura 1. Frações da extração exaustiva do caule de beterraba vermelha.

3.2. Avaliação do extrato do caule de beterraba vermelha

O extrato do caule de beterraba foi avaliado e os resultados foram expressos na figura 2 e 3. Dentre as condições avaliadas a que melhor preservou e manteve a cor do pigmento foi a amostra congelada (-18°C). A operação de congelamento é caracterizada por paralisar as reações químicas que possam ocorrer na amostra, além de impedir a ação nociva do oxigênio sobre o extrato. No mesmo sentido, temperaturas mais baixas como a de refrigeração (8°) contribuem para desacelerar a degradação do pigmento natural do caule de beterraba como foi observado nessa condição, assim proporcionou uma menor intensidade na perda da coloração avermelhada (Araújo et al., 2021; Güneşer, 2016). Em contrapartida a temperatura de 25°C foi a que mais acelerou a degradação do extrato, onde foi notável a degradação total no 7° dia de análises.



Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na coluna e minúsculas na linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% significado. Médias obtidas em triplicatas.

Figura 2. Degradação de pigmento do caule de beterraba vermelha ao longo de 7 dias.

Essa veloz degradação nos últimos dias do extrato acondicionado em 25°C foi possível ser visualizada na figura 3, onde se compara o pigmento no início e fim dos testes. Nota-se que ao iniciar, os extratos estavam com uma cor avermelhada intensa e ao término das análises a intensidade de cor foi diminuindo em 8°C ou degradando próximo da totalmente no caso da temperatura de 25°C, transformando a cor avermelhada em uma tonalidade de marrom/amarelado. A degradação observada neste estudo já foi evidenciada por Yang et al (2021), onde realizou uma tentativa de reduzir a degradação de avermelhados misturando betalaínas e antocianinas. contrapartida, obteve uma acelerada degradação das betalaínas característica de primeira ordem. Resultado semelhante, também obteve Kaimainen et al (2015) ao estudar a estabilidade das betalaínas, onde evidencia uma relação entre o aumento da temperatura de estocagem com a rápida degradação do pigmento. Esse processo de degradação que ocorre nas betalaína já foi elucidado inicialmente por Schwartz & Von Elbe (1983) e revalidado por Herbach, Stintzing e Carle (2004), onde descrevem as reações de isomerização seguida de descarboxilação no C15 e C17 respectivamente.

Essas reações químicas causam mudanças no comprimento de onda das betalaínas, deslocando o hipsocrômico de absorção (538 nm para 505 nm) alterando assim a coloração vermelha para laranja-avermelhada. Posteriormente, descreve-se reações de desidrogenação em betanina e isobetanina causando degradações mais acentuadas na coloração (laranja-avermelhada para amarelo) e por fim, ocorre o rompimento das estruturas químicas das moléculas (processo de clivagem) em ambos pigmentos resultando uma coloração amarelo brilhante ou a perda total da coloração (Herbach, Stintzing e Carle, 2006).

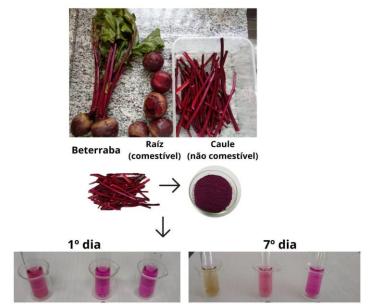


Figura 3. Beterraba vermelha, repartição e degradação da cor.

Tendo em vista que as temperaturas elevadas já são comprovadas como favoráveis para aceleração das reações químicas (Garcia-Barrera *et al.*, 1998; Roy *et al.*, 2004), estratégias para travar a degradação além do congelamento, devem ser exploradas, tendo previamente já diagnosticadas influência direta do pH, atividade de água e oxigênio. Assim, almeja-se promover uma barreira a iminente degradação desse pigmento, pois observa-se que a gama de produtos alimentícios armazenados em temperatura de 25°C é superior às demais (8°C, -18°C), dispondo de um baixo custo de estocagem e logística, além de resultar em um produto economicamente viável.

4. Conclusão

A matéria-prima utilizada se mostrou rica em pigmentos solúveis em água com grande potencial para extração, utilizando tecnologias limpas e sem agredir o meio ambiente. A pesquisa revelou que o extrato do caule de beterraba é uma alternativa viável, contudo, mais estudos são necessários visando preservar com maior eficiência os compostos pigmentados em temperaturas de 25°C e 8°C, pois vislumbra-se a aplicação desse extrato colorido na indústria de alimentos como uma forma de agregar saúde, facilitar a entrada de novos ingredientes ao mercado, além de um maior aproveitamento de resíduos agroindustriais, assim, diminuímos os impactos ao meio ambiente e aumentamos o aproveitamento de alimentos. A aplicação em alimentos do extrato do caule de beterraba vermelha deve ser estudada, a fim de avaliar a estabilidade e a bioacessibilidade desse pigmento no produto testado. A utilização de tecnologia alternativas para a proteção desses pigmentos é de extrema importância, portanto, sugere-se o estudo da microencapsulação desses compostos, assim levaremos ao mercado promissora alternativas para mantê-los viáveis, evitando a degradação e facilitando a aplicação em matrizes alimentícias.

5. Referências

ARAÚJO, F. Fernandes *et al.* Underutilized plants of the Cactaceae family: Nutritional aspects and technological applications. **Food Chemistry**, v. 362, p. 130196, 2021. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130196.

BAHRAMI, L. Sadat *et al.* The effect of beetroot inorganic nitrate supplementation on cardiovascular risk factors: A systematic review and meta-regression of randomized controlled trialsNitric Oxide. **Biology and Chemistry.** v. 115, p. 8-22, 2021. https://doi.org/10.1016/j.niox.2021.06.002.

CARRILLO, C. *et al.* Organic versus conventional beetroot. Bioactive compounds and antioxidant properties. **LWT**, v. 116, p. 108552, 2019. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108552.

CHHIKARA, N. *et al.* Bioactive compounds of beetroot and utilization in food processing industry: A critical review. **Food Chemistry**, v. 272, p. 192-200, 2019. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.022.

DELGADO, F. Vargas; Jiménez, A. R; López, O, Paredes. Natural pigments: Carotenoids, anthocyanins, and betalains - Characteristics, biosynthesis, processing, and stability. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 40, p. 173-289, 2000. https://doi.org/10.1080/10408690091189257.

DHIMAN, Atul. *et al.* Status of beetroot processing and processed products: Thermal and emerging technologies intervention. **Trends in Food Science and Technology**, v. 114, p. 443-458, 2021. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.05.042.

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, p. 68-87, 2012. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2012.03.003.

GARCIA-BARRERA, F. A; Reynoso, C. R; Mejia, E. G. Estabilidad de las betalaínas extraídas del garambullo (Myrtillocactus geometrizans). **Food Science and Technology International,** v. 4, p. 115-120, 1998. https://doi.org/10.1177/108201329800400206.

GUERRERO-RUBIO, M. A. *et al.* Light Emission in Betalains: From Fluorescent Flowers to Biotechnological Applications. **Trends in Plant Science**, v. 25, p. 159-175, 2020. https://doi.org/10.1016/j.tplants.2019.11.001.

GÜNEŞER, Onur. Pigment and color stability of beetroot betalains in cow milk during thermal treatment. **Food Chemistry**, v. 196, p. 220–227, 2016. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.09.033.

HERBACH, M. Kirsten; Stintzing, C. Florian; Carle, Reinhold. Thermal degradation of betacyanins in juices from purple pitaya [Hylocereus polyrhizus (Weber) Brittonv & Rose] monitored by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectometric analyses. European Food Research and Technology, ٧. 219, p. 377-385. 2004. https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00217-004-0948-8.

HERBACH, K. M.; Stintzing, F. C.; Carle, R. Betalain stability and degradation - Structural and chromatic aspects. **Journal of Food Science**, v. 71, p. 41-50, 2006. https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2006.00022.x.

KAIMAINEN, M. *et al.* Consumer acceptance and stability of spray dried betanin in model juices. **Food Chemistry**, v. 187, p. 398–406, 2015. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.04.064.

LISIECKA, Katarzyma; WÓJTOWICZ, Agnieszka. Effect of fresh beetroot application and processing conditions on some quality features of new type of potato-based snacks. **LWT**, v. 141, p. 110919, 2021. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.110919.

MIGUEL, Maria Graça. Betalains in some species of the amaranthaceae family: A review. **Antioxidants**, v7, p. 53, 2018. https://doi.org/10.3390/antiox7040053.

NIRMAL, N. Prakash; MEREDDY, Ram.; MAQSOOD, Sajid. Recent developments in emerging technologies for beetroot pigment extraction and its food applications. **Food Chemistry**, v. 356, 2021. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129611.

OMAE, J. Mayuri *et al.* Beetroot extract encapsulated in inulin: Storage stability and incorporation in sorbet. **Chemical Engineering Transactions**, v. 57, p. 1843–1848, 2017. https://doi.org/10.3303/CET1757308.

ROY, Kakali, *et al.* The use of a natural colorant based on betalain in the manufacture of sweet products in India. **International Journal of Food Science and Technology,** v. 39, p.1087-1091, 2004. https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2004.00879.x.

SCHWARTZ, J & Von Elbe, J. Identification of betanin degradation products. **Zeitschrift fur Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung**, v. 176, n. 6, p. 448–453, 1983. https://doi.org/10.1007/BF01042560.

TOSSI, E. Vanessa *et al.* Casting light on the pathway to betalain biosynthesis: A review. **Environmental and Experimental Botany**, v. 186, p. 104-464, 2021. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2021.104464.

WANG, Tao. *et al.* Stability of bioactive compounds and in vitro gastrointestinal digestion of red beetroot jam: Effect of processing and storage. **Food Bioscience**, v. 38, p. 100788, 2020. https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100788.

ZIN, M. Moh.; Márki, E.; Bánvölgyi, S. Evaluation of reverse osmosis membranes in concentration of beetroot peel extract. **Periodica Polytechnica**

Chemical Engineering, v. 64, n. 3, p. 340–348, 2020. https://doi.org/10.3311/PPch.15040.

6. Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com o suporte da Universidade Federal de Santa Maria e apoio financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Autores

Cassandra de Deus, Simara Somacal, Thaiane Marques da Silva, Eduardo Jacob-Lopes, Leila Queiroz Zepka, Cristiano Menezes*

Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria Endereço: Av. Roraima, 1000, CEP 97105-900, Santa Maria/RS, Brasil.

^{*} Autor para correspondência: cristiano.ufsm@gmail.com