

27 A 29 DE OUTUBRO DE 2020



ON LINE

7º Simpósio de  
Segurança Alimentar

Inovação com sustentabilidade

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

A.E. Sobczyk<sup>1</sup>, C.D. dos Santos<sup>1</sup>, A.S. Cassini<sup>1</sup>, I.C. Tessaro<sup>1</sup>

1- Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Escola de Engenharia – CEP: 90035-007 – Porto Alegre – RS – Brasil, Telefone: 55 (51) 3008-5485 – e-mail: ([andressa.enq@gmail.com](mailto:andressa.enq@gmail.com))

**RESUMO** – Betalainas são pigmentos naturais com elevado poder tintorial presentes em grande quantidade na beterraba vermelha, principal fonte de obtenção desse corante alimentício. Um dos maiores desafios para a ampliação da utilização das betalainas é a sua baixa estabilidade, fato que limita a sua aplicação na indústria de alimentos. O presente trabalho tem como objetivo estudar a aplicação do tratamento térmico High Temperature Short Time (HTST) para a estabilização de betalainas provenientes do bulbo da beterraba vermelha. Foram avaliadas duas concentrações de pigmento. A aplicação do HTST provocou degradação do pigmento, sendo bastante agressivo para extratos de menor concentração. Contudo, esse processamento levou a uma redução de 6 e 11 vezes na taxa de degradação de amostras com menor e maior concentração inicial de betalainas, respectivamente, melhorando a estabilidade do pigmento.

**PALAVRAS-CHAVE:** beterraba, betalainas, HTST, estabilidade.

**ABSTRACT** – Betalains are natural pigments with high tinting power present in large quantities in red beet, the main source of obtaining this food coloring. One of the biggest challenges for expanding the use of betalains is its low stability, a fact that limits its application in the food industry. This work aims to study the application of the High Temperature Short Time (HTST) heat treatment for the stabilization of betalains from the red beet bulb. Two pigment concentrations were evaluated. The application of HTST caused pigment degradation, being quite aggressive for extracts of lower concentration. However, this processing promoted reduction in the rate of degradation (6 and 11 times, respectively) of samples with lower and higher initial concentrations of betalains, improving the pigment stability.

**KEYWORDS:** beet, betalains, HTST, stability.

## 1. INTRODUÇÃO

As betalainas são pigmentos naturais nitrogenados e hidrossolúveis, que são sintetizados a partir do aminoácido tirosina e são amplamente utilizados como corante na indústria alimentícia por seu elevado poder tintorial. Esses pigmentos estão presentes somente nas plantas da ordem Caryophyllales (Jackman; Smith, 1996; Escribano et al., 2017) e se dividem em dois grupos estruturais, betacianinas (de coloração vermelho-violeta) e betaxantinas (de coloração amarelo-alaranjada), sendo o ácido betalâmico um cromóforo comum para ambas as estruturas (Azeredo, 2009). De acordo com Stintzing e Carle (2008a) e Strack et al. (2003), as betalainas podem ser encontradas em vegetais como beterraba vermelha, amaranto, acelga, pitaia e pera de cactus. Dentre as fontes de pigmento citadas, a principal é a beterraba vermelha, que contém quantidades apreciáveis de betanina, a betalaina majoritária na beterraba, variando de 75 a 95 % das betacianinas presentes nesse vegetal (Havlíková et al., 1983; Czapski, 1990; Cai et al., 2005). Sendo a beterraba a fonte mais utilizada para a obtenção de betalainas, uma das adversidades na utilização de seus extratos em alimentos, como produtos lácteos, é um sabor de terra causado pela geosmina e algumas pirazinas presentes nessas hortaliças, sendo necessário um tratamento para reduzir esse efeito indesejável (Lu et al., 2003; Stintzing; Carle, 2004).

REALIZAÇÃO



ORGANIZAÇÃO



[www.officeeventos.com.br](http://www.officeeventos.com.br)



Assim como o restante dos pigmentos naturais, as betalaínas apresentam menor estabilidade quando comparadas a corantes sintéticos. Tendo em vista sua baixa estabilidade durante o processamento e armazenamento dos alimentos, o espectro de aplicações desse corante na indústria alimentícia é bastante limitado, podendo ser utilizado eficazmente em alimentos congelados ou mantidos a baixas temperaturas e em produtos com vida útil curta, como iogurtes, pudins, sorvetes e salsichas (Güneşer, 2016; Kahn, 2016; Martins et al., 2017).

Vários fatores afetam essa estabilidade, incluindo calor, oxigênio, luz, ação de enzimas como  $\beta$ -glicosidases, polifenoloxidasas (PPOs), bem como peroxidases (PODs) e, embora as betalaínas apresentem estabilidade em uma ampla faixa de pH (variando de 3 a 7), condições de pH além dessa faixa podem levar à aceleração da degradação do pigmento (Stintzing; Carle, 2004; Herbach et al., 2006; Santos et al., 2018).

As PODs estão presentes em grande quantidade na beterraba vermelha e, para que se tenha uma melhor estabilidade, se faz necessária a inativação dessas enzimas, sendo essa inativação alcançada somente pela aplicação de calor (Stintzing; Carle, 2008a). Tratamentos térmicos são comumente aplicados para processamento de alimentos devido a sua capacidade de matar patógenos e inativar enzimas potencialmente prejudiciais à qualidade do alimento, bem como estender sua vida útil (Giribaldi et al., 2016; Moussa-Ayoub et al., 2016). Porém, a temperatura é um dos fatores que causam a degradação das betalaínas, sendo observadas perdas de cor a partir de temperaturas superiores a 30 °C (Stintzing; Carle, 2008a), logo, é de suma importância a adequação das condições de temperatura e tempo de processamento do tratamento térmico visando à diminuição de danos ao pigmento presente no extrato.

Uma alternativa para minimizar estas alterações de qualidade indesejáveis durante o processamento térmico é a utilização do tratamento térmico aplicado a altas temperaturas em curto período de tempo, o HTST. Esse tipo de processamento produz a maior destruição microbiológica com a menor perda de qualidade do alimento (Blasco et al., 2004; Santos et al., 2018).

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Extração

O método de extração adotado foi o esmagamento, conduzido de acordo com a metodologia descrita por Gonçalves et al. (2012), utilizando uma centrífuga de alimentos (Philips Walitta, modelo RI 1861) na potência máxima, visando a maior retirada de sumo possível, realizando verificação do volume do sumo (líquido) e da massa de bagaço (sólido) após a extração. Os extratos obtidos foram imediatamente embalados em pacotes plásticos e selados com a menor quantidade de ar possível, em porções de 200 mL de sumo, sendo armazenados em ultrafreezer (-38 °C), sob proteção da luz, até a realização dos experimentos. Todo o processo foi realizado com baixa luminosidade para reduzir as perdas de pigmento durante a extração.

### 2.2 Tratamento Térmico a Altas Temperaturas em Curto Tempo (HTST)

Para cada experimento realizado, um pacote selado de sumo foi descongelado em banho de água à temperatura ambiente (aproximadamente 25 °C), sob proteção da luz. O sumo bruto passou por centrifugação (centrífuga Cientec, modelo CT-5000R) a 6000 rpm, durante 10 minutos, a 4 °C, seguida de filtração em filtro de papel (Qanty, poro nominal de 25  $\mu$ m) para remoção de particulados.

A metodologia adotada para a aplicação do HTST segue a utilizada por Santos et al. (2018). Para avaliar os efeitos do tratamento foram utilizadas duas concentrações de extrato:  $38,9 \pm 0,1$  e  $24,2 \pm 0,2$  mg de betanina/100 mL de extrato. O sumo foi colocado em tubos de ensaio, utilizando-se um volume padrão de 3,5 mL de extrato. Os tubos foram colocados em um banho previamente aquecido a  $95,8 \pm 2,5$  °C, durante 120 segundos. Terminado o tempo no aquecimento, os tubos foram imediatamente submetidos ao resfriamento em banho de água fria e gelo durante 3 minutos. As amostras resfriadas foram armazenadas em frascos eppendorf (um para cada dia de análise), sob refrigeração (aproximadamente 4 °C) e protegidas da luz. As amostras de controle foram submetidas à mesma exposição que as amostras tratadas, não sendo submetidas, somente, à etapa do tratamento térmico (aquecimento e resfriamento), sendo armazenadas da mesma forma para a realização das análises.



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

### 2.3 Análises da qualidade dos extratos

**Determinação do teor de betalaínas:** As análises para quantificar o teor do pigmento nos extratos foram feitas em função da concentração de betanina (mg de betanina/100 mL de extrato). O teor de betanina foi quantificado através de espectrofotometria segundo o método de Nilsson, detalhado por Stintzing e Carle (2008b). A Equação 1 foi utilizada para o cálculo da concentração de betalaínas.

$$\text{Teor de betalaína} \left( \frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) = \frac{A \times DF \times MW \times 1000}{\epsilon \times L} \quad (1)$$

Na Equação 1, A é a absorção  $\lambda_{\text{máx}}$  (536 nm) corrigida pela absorção a 600 nm, DF é o fator de diluição empregado, MW é a massa molar (g/mol),  $\epsilon$  é a absorvidade molar (L mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>) e L é o comprimento do percurso da luz (cm). Após as devidas conversões, os resultados são expressos em mg/100 mL. Para a realização dos experimentos, foi utilizado o espectrofotômetro PG Instruments (T80 UV/VIS).

**Taxa de degradação do pigmento:** Durante o período de armazenamento, após a aplicação do tratamento térmico HTST, foi avaliada a degradação das betalaínas a partir da taxa de degradação (TD), relacionando-se a variação de concentração do pigmento ao período de armazenamento. Para o cálculo de TD (mg de betanina/100 mL de extrato), a Equação 2 foi utilizada.

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

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

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

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

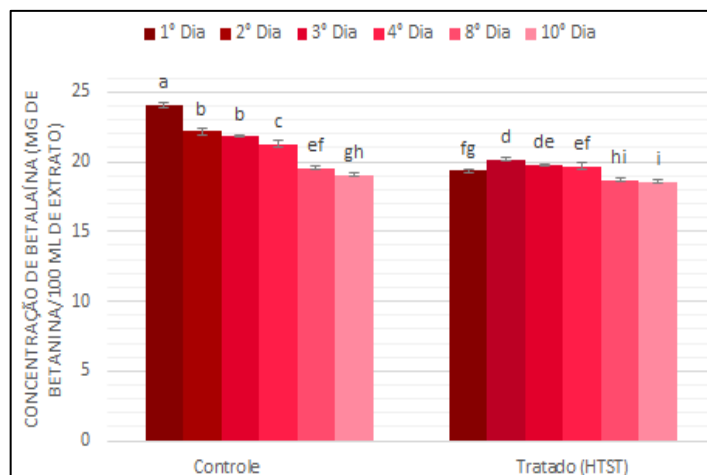
### 3.1 Efeitos do HTST sobre a estabilidade do pigmento

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

A amostra controle (não tratada) apresentou concentração maior do que a amostra tratada em praticamente todos os dias de armazenamento. Após o período total de armazenamento (10º dia), a TD de betalaínas da amostra controle foi de 0,501 mg de betanina/100 mL de extrato por dia e, para a amostra tratada durante 120 segundos, a aproximadamente 96 °C, foi de 0,078 mg de betanina/100 mL de extrato por dia. Isso demonstra uma melhora na estabilidade das amostras tratadas, visto que a sua taxa de degradação de pigmento

foi, aproximadamente, 6 vezes menor do que a taxa de degradação das amostras controle. Mesmo assim, o tratamento foi muito agressivo às betalaínas, uma vez que, mesmo com uma TD maior, a amostra controle manteve sua concentração mais elevada do que a amostra tratada após o período de armazenamento.

Figura 1: Concentrações de Betalaínas em amostras com menor concentração inicial ( $24,2 \pm 0,2$  mg de betanina/100 mL de extrato), tratadas termicamente com HTST, e em amostras controle (não tratadas), ao longo de 10 dias de armazenamento.



Na Figura 2 estão representadas as concentrações de betalaínas em amostras com maior concentração inicial ( $38,9 \pm 0,1$  mg de betanina/100 mL de extrato), tratadas termicamente com HTST, e em amostras controle (não tratadas) de mesma concentração, no dia do tratamento (1º dia) e durante o tempo de armazenamento total de 10 dias (2º, 3º, 4º, 8º e 10º dia). Os resultados seguidos por diferentes letras no gráfico indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) de acordo com o teste estatístico Tukey.

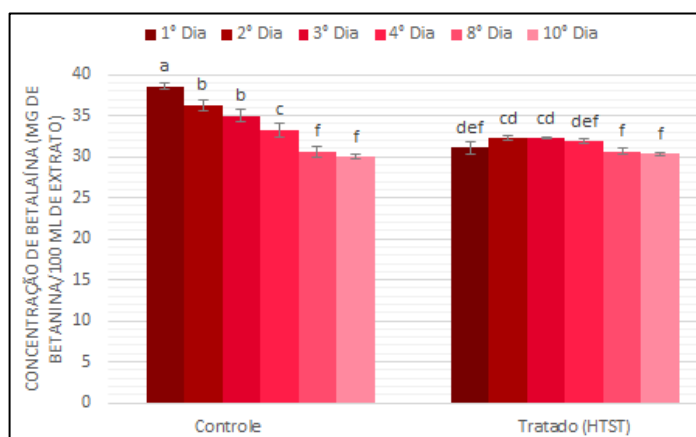
A amostra controle (não tratada) apresentou concentração maior do que a amostra tratada no primeiro, segundo e terceiro dia de armazenamento. Entretanto, após o período total de armazenamento (10º dia), a TD de betalaínas da amostra controle foi de  $0,861$  mg de betanina/100 mL de extrato por dia e, para a amostra tratada durante 120 segundos, a aproximadamente  $96^\circ\text{C}$ , foi de  $0,078$  mg de betanina/100 mL de extrato por dia. Isso demonstra uma melhora na estabilidade do pigmento, visto que a taxa de degradação da amostra tratada é, aproximadamente, 11 vezes menor do que a TD da amostra controle. Além disso, observa-se que a partir do quarto dia de armazenamento há uma diferença de concentração muito pequena entre o tratado e o controle, não havendo diferença significativa nos 8º e 10º dias. Na amostra tratada, não houve redução significativa de concentração do 4º dia para o 8º dia de armazenamento, diferentemente do ocorrido no controle, no qual uma degradação significativa foi observada neste mesmo período.

Santos et al. (2018) estudaram os efeitos da aplicação do tratamento térmico HTST em extratos dos talos da beterraba vermelha durante 120 segundos (temperatura efetiva de  $85,7^\circ\text{C}$ ), verificando que o tratamento não foi eficiente para amostras de concentração mais baixa, porém, melhorou a estabilidade de amostras com maiores concentrações. Mereddy et al. (2017), aplicaram o tratamento térmico para o processamento de suco de beterraba vermelha. Os autores observaram que o suco tratado termicamente mostrou uma maior estabilidade quando comparado com o suco não tratado, ao longo do período de armazenamento. Os resultados obtidos pelos autores de ambos os estudos vão ao encontro dos resultados obtidos neste trabalho, confirmando a contribuição do tratamento térmico para a estabilidade das betalaínas presentes no bulbo da beterraba vermelha.

Santos et al. (2018) estudaram os efeitos da aplicação do tratamento térmico HTST em extratos dos talos da beterraba vermelha durante 120 segundos (temperatura efetiva de  $85,7^\circ\text{C}$ ), verificando que o tratamento não foi eficiente para amostras de concentração mais baixa, porém, melhorou a estabilidade de amostras com maiores concentrações. Mereddy et al. (2017), aplicaram o tratamento térmico para o processamento de suco de beterraba vermelha. Os autores observaram que o suco tratado termicamente mostrou uma maior estabilidade quando comparado com o suco não tratado, ao longo do período de armazenamento. Os resultados pelos autores de ambos

os estudos vão ao encontro dos resultados obtidos neste trabalho, confirmando a contribuição do tratamento térmico para a estabilidade das betalaínas presentes no bulbo da beterraba vermelha.

Figura 2: Concentrações de Betalaínas em amostras com maior concentração inicial ( $38,9 \pm 0,1$  mg de betanina/100 mL de extrato) tratadas termicamente com HTST e em amostras controle (não tratadas) ao longo de 10 dias de armazenamento.



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

## 4. CONCLUSÕES

Um grande desafio da aplicação industrial das betalainas como corante natural é sua instabilidade e, conseqüentemente, sua rápida degradação frente a diferentes fatores. Neste trabalho, foi possível constatar uma melhora na estabilidade das betalainas ao longo de dez dias de armazenamento, em ambas as condições estudadas (extrato com maior e menor concentração inicial de betalainas), a partir da aplicação do tratamento térmico de HTST, a  $95,8 \pm 2,5$  °C, por 120 segundos. Essa melhora, ou seja, a redução da degradação, foi ainda mais acentuada na amostra mais concentrada. A aplicação do HTST, entretanto, causou a degradação das betalainas em ambas as amostras, conforme já é esperado em qualquer tratamento térmico, mas esse efeito também foi menos severo na amostra mais concentrada.

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

## 5. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FAPERGS, à CAPES e ao CNPq pelo auxílio financeiro.



## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Azeredo, H.M.C. (2009) Betalains: properties, sources, applications, and stability – a review. *International Journal of Food Science and Technology*, 44, 2365-2376.
- Blasco, R.; Esteve, M.J.; Frígola, A.; Rodrigo, M. (2004) Ascorbic acid degradation kinetics in mushrooms in a high-temperature short-time process controlled by a thermoresistometer. *LWT - Food Science and Technology*, 37, 171-175.
- Cai, Y. Z.; Sun, M.; Corke, H. (2005) Characterization and application of betalain pigments from plants of the Amaranthaceae. *Trends in Food Science & Technology*, 16, 370–376.
- Czapski, J. (1990) Heat stability of betacyanins in red beet juice and in betanin solutions. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung*, n. 191, 275–278.
- Escribano, J.; Cabanes, J.; Jiménez-Atiénzar, M.; Ibañez-Termolada, M.; Gómez-Pando, L.R.; Garcá-Carmona, F.; Gandía-Herrero, F. (2017) Characterization of betalains, saponins and antioxidant power in differently colored quinoa (*Chenopodium quinoa*) varieties. *Food Chemistry*, 234, 285–294.
- Giribaldi, M.; Coscia, A.; Peila, C.; Antoniazzi, S.; Lamberti, C.; Ortoffi, M.; Moro, G.E.; Bertinoc, E.; Civera, T.; Cavallarin, L. (2016) Pasteurization of human milk by a benchtop High-Temperature Short-Time device. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, n. 36, 228–233.
- Gonçalves, L.C.P.; Trassi, M.A.S.; Lopes, N.B.; Dörr, F.A.; Santos, M.T.; Baader, W.J.; Oliveira JR., V.X.; Bastos, E.L. (2012) A comparative study of the purification of betanin. *Food Chemistry*, 131, 231–238.
- Güneşer, O. (2016) Pigment and color stability of beetroot betalains in cow milk during thermal treatment. *Food Chemistry*, 196, 220–227.
- Havliková, L.; Míková, K.; Kyzlink, V. (1983) Heat stability of betacyanins. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung*, 177, 247–250.
- Herbach, K.M.; Stintzing, F.C.; Carle, R. (2006) Betalain Stability and Degradation - Structural and Chromatic Aspects. *Journal of Food Science*, 71 (4), R41 – R50.
- Jackman, R. L.; Smith, J. L. (1996) *Natural food colourants*, 244–309, London: Blackie Academic & Professional.
- Khan, M. I. (2016) Stabilization of betalains: A review. *Food Chemistry*, 197, 1280–1285.
- Lu, G.; Edwards, C.G.; Fellman, J. K.; Mattinson, D. S.; Navazio, J. (2003) Biosynthetic origin of geosmin in red beets (*Beta vulgaris* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(4), 1026–1029.
- Martins, N.; Roriz, C. L.; Morales, P.; Barros, L.; Ferreira, I. C. F. R. (2017) Coloring attributes of betalains: a key emphasis on stability and future applications. *Food & Function*, 8, 1357–1372.
- Mereddy, R.; Chan, A.; Fanning, K.; Nirmal, N.; Sultanbawa, Y. (2017) Betalain rich functional extract with reduced salts and nitrate content from red beetroot (*Beta vulgaris* L.) using membrane separation technology. *Food Chemistry*, n. 215, 311–317.
- Moussa-Ayoub, T. E.; Jaeger, H.; Youssef, K.; Knorr, D.; El-shamahy, S.; Kroh, L. W.; Rohn, S. (2016) Technological characteristics and selected bioactive compounds of *Opuntia dillenii* cactus fruit juice following the impact of pulsed electric field pre-treatment. *Food Chemistry*, 210, 249-261.
- Santos, C. D.; Ismail, M.; Cassini, A. S.; Marczak, L. D. F.; Tessaro, I. C.; Farid, M. (2018) Effect of thermal and high pressure processing on stability of betalain extracted from red beet stalks. *Journal of Food Science and Technology*, 55(2), 568-577.
- Stintzing, F.C.; Carle, R. (2004) Functional properties of anthocyanins and betalains in plants, food, and in human nutrition. *Trends in Food Science & Technology*, n. 15, 19–38.
- Stintzing, F.C.; Carle, R. (2008a) Betalains in Food: Occurrence, Stability, and Postharvest Modifications. *Food colorantes: Chemical and Functional Properties*, 277-299, CRC Press: Boca Raton.
- Stintzing, F.C.; Carle, R. (2008b) *Food colorantes: Chemical and Functional Properties*, 507-520, CRC Press: Boca Raton.
- Strack, D.; Vogt, T.; Schliemann, W. (2003) Recent advances in betalain research. *Phytochemistry*, 62, 247–269.