

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA
MARIA CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
TECNOLOGIA DOS ALIMENTOS**

Cassandra de Deus

**CO-ENCAPSULAÇÃO DE *Lactobacillus plantarum* E COMPOSTOS
BIOATIVOS EXTRAÍDOS DO CAULE DE BETERRABA
VERMELHA (*Beta vulgaris L.*) POR *SPRAY DRYER***

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Santa Maria, RS, Brasil
2021

Co-encapsulação de *Lactobacillus plantarum* e compostos bioativos extraídos do caule de beterraba vermelha (*Beta vulgaris L.*) por *spray dryer*

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre em Ciência e Tecnologia dos Alimentos**.

Orientador: Prof. Dr. Cristiano Ragagnin de Menezes
Co-orientador: Prof^a. Dr^a. Milene Teixeira Barcia

Santa Maria, RS
2021

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001

de Deus, Cassandra
Co-encapsulação de *Lactobacillus plantarum* e compostos bioativos extraídos do caule de beterraba vermelha (*Beta vulgaris* L.) por spray dryer / Cassandra de Deus.- 2021. 98 p.; 30 cm

Orientador: Cristiano Ragagnin de Menezes
Coorientadora: Milene Teixeira Barcia
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, RS, 2021

1. Co-encapsulação 2. *Lactobacillus plantarum*
3. Betalainas 4. Beterraba vermelha 5. Probióticos
I. Ragagnin de Menezes, Cristiano II. Teixeira Barcia, Milene III. Título.

Sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFSM. Dados fornecidos pelo autor(a). Sob supervisão da Direção da Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central. Bibliotecária responsável Paula Schoenfeldt Patta CRB 10/1728.

Declaro, CASSANDRA DE DEUS, para os devidos fins e sob as penas da lei, que a pesquisa constante neste trabalho de conclusão de curso (Dissertação) foi por mim elaborada e que as informações necessárias objeto de consulta em literatura e outras fontes estão devidamente referenciadas. Declaro, ainda, que este trabalho ou parte dele não foi apresentado anteriormente para obtenção de qualquer outro grau acadêmico, estando ciente de que a inveracidade da presente declaração poderá resultar na anulação da titulação pela Universidade, entre outras consequências legais.

**CO-ENCAPSULAÇÃO DE *Lactobacillus plantarum* E COMPOSTOS BIOATIVOS
EXTRAÍDOS DO CAULE DE BETERRABA VERMELHA (*Beta vulgaris L.*) POR
SPRAY DRYER**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre em Ciência e Tecnologia dos Alimentos**.



Cristiano Ragagnin de Menezes, Dr. (UFSM)
(Presidente/Orientador)



Milene Teixeira Barcia, Dr^a. (UFSM)
(Co-orientador)



Graciele Lorenzoni Nunes, Dr^a. (FESGO)



Leila Queiroz Zepka, Dr^a. (UFSM)

Dedico este trabalho a Deus,
à minha família e amigos.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, gostaria de agradecer a Deus pela minha vida e pelas oportunidades concedidas a mim, obrigada por sempre me proteger e guiar no caminho correto.

Agradeço aos meus familiares que sempre confiaram e acreditaram em mim. Obrigada pelo apoio, compreensão, suporte emocional e todo o amor depositado em mim durante toda minha criação e principalmente nesse período. Gratidão a minha mãe Eva que sempre me apoiou e me incentivou a estudar, ao meu amigo, companheiro e parceiro de vida, Alan Douglas e a sua família incrível que me receberam de braços abertos e me integraram a com tanto carinho.

Agradeço em especial a minha avó Izabete de Deus Molina, a pessoa mais importante nessa trajetória, juntamente com meu avô Elias, me ensinaram a ter valores e contribuíram com minha criação exemplar. O ser humano que me tornei foi graças aos ensinamentos que me transmitiram. Amo vocês, vó Bete e vô Elias!

A minha família “os de Deus”, que mesmo distantes, estiveram comigo, me apoiando e motivando a nunca desistir dos meus sonhos, minhas queridas tias(os) e primas(os), gratidão pelo apoio de vocês!

A Universidade Federal de Santa Maria, por me proporcionar essa oportunidade de desenvolvimento profissional, e a CAPES pelo apoio financeiro durante esse período.

Ao professor Cristiano Ragagnin de Menezes, meu orientador desde a graduação, gratidão por acreditar nas minhas ideias e apoiá-las, obrigada pelos ensinamentos e pelas oportunidades a mim concedidas.

Aos demais professores que contribuíram na realização deste trabalho, professora Milene Teixeira Barcia pela co-orientação, a professora Cristiane de Bona da Silva, pela colaboração e disposição do Laboratório de Desenvolvimento Farmacotécnico, ao professor Érico Flores pela realização da análise de tamanho e distribuição de partículas e ao professor Edson por ceder o microscópio eletrônico de varredura.

As minhas fiéis amigas e vizinhas, que foram minhas confidentes e conselheiras nessa jornada, sempre me orientando, obrigada pelo suporte nos momentos bons e também nos mais difíceis.

Agradeço de coração, aos colegas do Laboratório 106, em especial, Simara, Débora, Vandrê, Vitor, Gabi, Greice, Naiara, Maiara, Suelen e demais colegas, pelos ensinamentos

desde a iniciação científica que posteriormente, me auxiliaram no desenvolvimento e na execução deste trabalho, muito obrigada time!

Agradeço à colega e atual grande amiga Thaianne pelo incansável esforço em me ajudar na execução das análises, incentivo e reconhecimento dos meus esforços e minhas habilidades, que por consequência veio a me convidar para ser sócia de um empreendimento voltado a nossas pesquisas, gratidão amiga!

As novas amizades construídas nesse período, que hoje fazem total diferença na minha vida, obrigada por contribuírem na minha evolução profissional e pessoal.

Quero deixar registrado um agradecimento especial a todas pessoas que mesmo em pequenos detalhes, ou breves períodos me auxiliaram nessa trajetória, seja com palavras ou gestos, meu muito obrigada, assim, sou grata a todos que contribuíram direta ou indiretamente nessa caminhada!

RESUMO

CO-ENCAPSULAÇÃO DE *Lactobacillus plantarum* E COMPOSTOS BIOATIVOS EXTRAÍDOS DO CAULE DE BETERRABA VERMELHA (*Beta vulgaris L.*) POR *SPRAY DRYER*

AUTORA: Cassandra de Deus

ORIENTADOR: Cristiano Ragagnin de Menezes

COORIENTADORA: Milene Teixeira Barcia

Este trabalho teve como objetivo investigar a influência, viabilidade e estabilidade de bactérias probióticas (*Lactobacillus plantarum*) microencapsuladas com o extrato aquoso do caule da beterraba vermelha em concentrações de 100% e 50%, utilizando a técnica de secagem por atomização por *spray dryer*. As microcápsulas foram avaliadas durante o armazenamento sob diferentes temperaturas (25 °C, 8 °C e -18 °C) por 120 dias de ambos compostos, além de simulações gastrointestinais “*in vitro*”, tratamento térmico, bem como avaliação da morfologia e diâmetro médio das microcápsulas. Verificou-se que a adição do extrato na concentração de 100% influenciou de forma adversa para a sobrevivência dos probióticos, o qual também diferenciou-se no tamanho e aspectos morfológicos comparada ao controle e a concentração de 50%. O melhor tratamento contendo probióticos e betalaínas foi o T5, onde se adicionou 50% de extrato proporcionando a viabilidade de ambos compostos no período de 120 dias em diferentes temperaturas de armazenamento. Da mesma forma, no que diz respeito à proteção das betalaínas, a microencapsulação foi promissora em comparação ao controle (extrato livre) que em menos de uma semana acaba por perder sua coloração em 25 °C e 8 °C. Além disso, o armazenamento sob congelamento (-18 °C) se mostrou mais eficiente na preservação de ambos compostos de interesse. Por fim, com base nos resultados obtidos, conclui-se que a co-encapsulação de probióticos e extrato do caule de beterraba foi alcançada, ampliando assim a utilização de ambos compostos, minimizando as perdas de propriedades.

Palavras-chave: *Spray dryer*, *Lactobacillus plantarum*, betalaínas, caule de beterraba, pigmento natural.

ABSTRACT

CO-ENCAPSULATION OF *Lactobacillus plantarum* AND BIOACTIVE COMPOUNDS EXTRACTED FROM THE STEM OF RED BEET (*Beta vulgaris L.*) BY SPRAY DRYER

AUTHOR: Cassandra de Deus
ADVISOR: Cristiano Ragagnin de Menezes
CO-ADVISOR Milene Teixeira Barcia

This work aimed to investigate the influence, viability and stability of probiotic bacteria (*Lactobacillus plantarum*) microencapsulated with the aqueous extract of red beet stem at concentrations of 100% and 50%, using the spray drying technique. The microcapsules were evaluated during storage at different temperatures (25°C, 8°C and -18°C) for 120 days of both compounds, in addition to "in vitro" gastrointestinal simulations, heat treatment, as well as evaluation of the morphology and mean diameter of the microcapsules. It was found that the addition of the extract at a concentration of 100% adversely influenced the survival of probiotics, which also differed in size and morphological aspects compared to the control and the concentration of 50%. The best treatment containing probiotics and betalains was T5, where 50% of the extract was added, providing the viability of both compounds for a period of 120 days at different storage temperatures. Likewise, with regard to the protection of betalains, microencapsulation was promising compared to the control (free extract) which in less than a week ends up losing its color at 25 °C and 8 °C. Furthermore, the storage under freezing (-18 °C) proved to be more efficient in the preservation of both compounds of interest. Finally, based on the obtained results, it can be concluded that the co-encapsulation of probiotics and beet stem extract was achieved, thus expanding the use of both compounds, minimizing property losses.

Keywords: *Spray dryer, Lactobacillus plantarum*, betalains, beet stem, natural pigment.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1 BACTÉRIAS PROBIÓTICAS.....	13
2.2 GÊNERO LACTOBACILLUS.....	14
2.3 RESÍDUOS DE ALIMENTOS.....	15
2.4 BETERRABA.....	15
2.5 MICROENCAPSULAÇÃO.....	17
3 OBJETIVOS	20
3.1 OBJETIVO GERAL.....	20
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	20
MANUSCRITO 1 - CAPÍTULO DE LIVRO	22
MANUSCRITO 2 - ARTIGO DE REVISÃO	31
MANUSCRITO 3 - ARTIGO DE RESULTADOS	59
4 DISCUSSÃO GERAL	91
4.1 EXTRATO OBTIDO DO CAULE DE BETERRABA VERMELHA.....	92
4.2 CARACTERIZAÇÃO GERAL DAS MICROCÁPSULAS OBTIDAS POR <i>Spray drying</i>	93
4.3 AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE DO PROBIÓTICO E DE BETALAÍNAS DURANTE O ARMAZENAMENTO.....	93
4.4 AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA DE AMBOS COMPOSTOS NO TRATAMENTO TÉRMICO E SIMULAÇÃO DO SISTEMA DIGESTIVO <i>IN VITRO</i>	94
5 CONCLUSÃO GERAL	95
6 SUGESTÕES	96
REFERÊNCIAS	97

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Partes da beterraba.....	16
Figura 2- Representação do funcionamento e as principais etapas de um <i>Spray drying</i>	19

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição centesimal: partes aéreas e raiz de beterraba.....	17
--	----

1 INTRODUÇÃO

A busca por produtos alimentícios de qualidade e que proporcionem saúde vem crescendo com o passar dos anos. Uma alimentação saudável e balanceada vem associada à aquisição de produtos que, em sua composição apresentam além dos nutrientes, benefícios à saúde, decorrente de vitaminas, minerais, compostos fitoquímicos (pigmentos naturais, compostos fenólicos) e ainda produtos probióticos (HANSEN; THOMSEN, 2018; VIZIREANU e HRUSCHKA, 2018). Diversos alimentos tem capacidade de contribuir para a regulamentação das funções vitais do organismo humano, auxiliando na prevenção de doenças e enfermidades proporcionando saúde e bem-estar ao indivíduo (WALKER *et al.*, 2019; SILVA *et al.*, 2019). Diante deste cenário, os probióticos, são microorganismos vivos, quando ingeridos em quantidades adequadas auxiliam no equilíbrio da microbiota intestinal, além de outros benefícios secundários vinculados (FAO/OMS, 2001; SILVA; BARREIRA; OLIVEIRA, 2016; HILL *et al.*, 2014).

Arelados a isso, extratos obtidos de diferentes partes de plantas apresentam uma gama de compostos fitoquímicos (elementos químicos não nutricionais) encontrados de forma abundante no reino vegetal (frutas, verduras, leguminosas e outras plantas) e que apresentam uma capacidade biológica de alta relevância, isto é, retratam uma capacidade de prevenir ou desacelerar o envelhecimento, além de estarem relacionados no combate e prevenção de câncer e outras doenças causadas pela oxidação e inflamação das células, sendo assim, benéfico para a saúde de quem os consumir (BEN SLAMA *et al.*, 2013; GHUMAN *et al.*, 2019; NHU *et al.*, 2019).

No tubérculo beterraba, os caules e folhas são considerados partes do vegetal não comestíveis, e por isso são considerados rejeitos e assim descartados pelo consumidor (TEIGISEROVA, D. A. *et al.*, 2019; DEMIRBAS, 2011). No entanto, esses rejeitos da beterraba são ricos em compostos antioxidantes e anti-inflamatórios, como flavonóides, pigmentos naturais como betalaínas e clorofila, vitaminas (A, complexo B e C), minerais como o ferro, fósforo e magnésio. Assim, os estudos vêm relacionando esses compostos ao tratamento e prevenção de algumas doenças e enfermidades que acometem a sociedade atual (VÁLI *et al.*, 2007; AJILA; PRASADA RAO, 2013; SARHAN; SHATI; ELSAID, 2014).

A aplicação de probióticos em distintas matrizes alimentares tem sido largamente difundida, pois relevantes pesquisas evidenciaram seus benéficos a saúde (CHO; FINOCCHIARO, 2009; RIJKERS *et al.*, 2011; BARATHIKANNAN *et al.*, 2019). O emprego desses probióticos em alimentos contempla exclusivamente, produtos lácteo e

alguns sucos (MAKINEN *et al.*, 2012; RANADHEERA; NAUMOVSKI; AJLOUNI, 2018; REALE; DI RENZO; COPPOLA, 2019.). No entanto, pesquisas atuais visam a aplicação em diferentes fontes de alimentos como manteiga (ERKAYA *et al.*, 2015), chocolates (POSSEMIERS *et al.*, 2010; EOR *et al.*, 2019), balas, biscoitos, massas (REALE; DI RENZO; COPPOLA, 2019) a fim de desenvolver produtos com um apelo nutritivo maior e ampliar a gama de produtos probióticos (HUANG *et al.*, 2016; MIRANDA *et al.*, 2019). Ao mesmo tempo, os compostos fitoquímicos encontrados em frutas e vegetais podem ser incorporados em produtos processados a fim de promover um efeito positivo tanto na saúde do consumidor, quanto na proteção do produto de interesse, frente a possíveis contaminações, oxidações ou degradação nutricional (SHAHIDI; AMBIGAIPALAN, 2015).

Contudo, ainda é um desafio assegurar a viabilidade dos probióticos e dos compostos fitoquímicos até o consumidor, visto que são sensíveis quando expostos às condições do processamento de alimentos (temperatura, oxigênio, luz), ou na passagem pelo trato gastrointestinal (pH, enzimas, presença de outros agentes), tendo em vista que, protegê-los frente a esses fatores são cruciais para assegurar a chegada dos benefícios ao local de absorção (PUUPPONEN-PIMIÄ *et al.*, 2002; GUÉRIN *et al.*, 2003; ZAGO *et al.*, 2011). Segundo CHO *et al.* (2018) a associação de dois potenciais bioativos (probiótico e extrato de plantas) pode resultar em um efeito sinérgico, visto que ambos apresentam um impacto relevante para a saúde do indivíduo.

São variadas as barreiras encontradas para a aplicação desses compostos em alimentos, já que sua utilização direta pode levar a degradação e perda da eficácia, com isso, estuda-se alternativas para protegê-los. O emprego da técnica de microencapsulação vem para viabilizar a incorporação dos probióticos e fitoquímicos em matrizes alimentares distintas, já que a mesma pode ser aplicada para substâncias líquidas, sólidas e gasosas, onde as microcápsulas têm como particularidade seu tamanho pequeno e liberação controlada no sistema gastrointestinal evitando assim perdas e degradações durante o processamento e digestão humana (CHEN *et al.*, 2017; ETCHEPARE *et al.*, 2020). Frente a esse contexto, o presente estudo se propôs desenvolver a co-encapsulação de cultura probiótica *Lactobacillus plantarum* e compostos fitoquímicos extraídos dos caules da beterraba vermelha (*Beta vulgaris L.*) como uma alternativa de proteção de ambos frente a circunstâncias adversas como, passagem simulada do sistema gastrointestinal, tempo de vida útil e avaliação da sobrevivência dos probióticos sob diferentes concentrações (100% e 50%) do extrato na microcápsula. Logo, deseja-se avaliar as possíveis influências (positivas ou negativas), na estabilidade e viabilidade da microencapsulação para ambos compostos, a fim de possibilitar

futuras aplicações em produtos alimentícios fortificados com probióticos e compostos bioativos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Bactérias probióticas

Bactérias probióticas são microrganismos vivos presentes no sistema intestinal de animais e humanos, sendo responsáveis pela absorção de nutrientes e controle na população de microrganismos patogênicos, através da competição pelo sítio de adesão na mucosa intestinal (FULLER, 1992; STANTON *et al.*, 2001; DOMINGO, 2017).

Numerosos estudos vêm evidenciando os benefícios associados às bactérias probióticas, dentre eles: prevenção e tratamento de doenças inflamatórias e infecciosas (LEE, *et al.*, 2014) antialérgicos (GLISZCZYŃSKA-ŚWIGŁO; SZYMUSIAK; MALINOWSKA, 2006; HARISH; VARGHESE, 2006); anti-hipertensivo (LYE *et al.*, 2009), melhoram a absorção de nutrientes (VONK *et al.*, 2012), aumento da imunidade (HARDY *et al.*, 2013; STAVROU; KOTZAMPASSI, 2017), controle de diarreias (NARAYAN *et al.*, 2010), doenças cardiovasculares (CHANDRA, 2010; HOMAYOUNI *et al.*, 2012), e no tratamento de câncer (LEE, *et al.*, 2012; ANDREWS; TAN, 2012).

Os mecanismos de ação dos probióticos atende-se a competição pelo sítio de adesão sendo assim uma barreira contra patógenos (HILL *et al.*, 2014), pois competem por nutrientes, inativando toxinas, ainda, inibição do crescimento de bactérias patogênicas através da excreção de bactericidas e a acidificação do meio, tornando assim um ambiente desfavorável para o desenvolvimento para bactérias pró-inflamatórias. Contudo, este ambiente viabiliza o desenvolvimento de espécies probióticas como as do gênero *Lactobacillus*, e *Bifidobacterium* (SZYMAŃSKI *et al.*, 2006; SAAD *et al.*, 2013; CONSTANTE *et al.*, 2017; QUIGLEY, 2019).

Para usufruir dos benefícios terapêuticos atribuídos aos probióticos, recomenda-se a ingestão diária de no mínimo 10^6 a 10^7 UFC g^{-1} (FAO/OMS, 2001). A legislação brasileira regulamenta um valor de 10^8 a 10^9 UFC g^{-1} , no entanto valores mais baixos podem ser utilizados, desde que a empresa comprove a eficácia, ou tenha uma entrega direcionada garantida (BRASIL, 2012).

2.2 Gênero *Lactobacillus*

O gênero *Lactobacillus* é constituído por bactérias gram-positivas, em forma de bastonetes, isento de flagelos, não formadoras de esporo, e com características aerotolerantes ou anaeróbios (SHAH, 2007), são caracterizadas pela produção de ácido láctico como único ou predominante produto final da fermentação de açúcares, sendo assim muito utilizados na fabricação de alimentos lacto-fermentados (AXELSSON; AHRNÉ, 2000).

Diferentes cepas de lactobacilos foram estudadas e evidenciou-se seus benefícios para a saúde do hospedeiro, pois auxilia a reconstrução rápida da microbiota intestinal, atuando na composição de um ambiente inóspito para bactérias patogênicas, através da excreção de bactericidas, competição por sítios de absorção, nutrientes e adesão do sítio de ligação da mucosa intestinal (OHLAND; MACNAUGHTON, 2010; CARAMIA; SILVI, 2011; MALAGO; KONINKX, 2011; ZHAO; KIM, 2015). Em vista disso, são adicionados em produtos alimentícios para humanos, onde predomina-se a classe dos lácteos, alguns sucos e produtos fermentados (SEEGERS, 2002).

Cepas de *Lactobacillus plantarum*, tem como características a resistência durante a passagem pelo sistema gastrointestinal, permanecendo viáveis após o contato com ácido e enzimas presentes, além de atuar na regulação da microbiota intestinal (GEORGIEVA *et al.*, 2009). Apresentam também características antimicrobianas frente a diferentes patógenos (BEN SLAMA *et al.*, 2013; KOTB, 2015), atividades imunológicas, anti-inflamatórias, antitumoral (WANG *et al.*, 2009; NOGUCHI *et al.*, 2012; KWAK *et al.*, 2014), antioxidante (ZHANG, *et al.*, 2013; SASIKUMAR *et al.*, 2017), eficácia em neutralizar citotoxicidade induzida por enterotoxinas (XING *et al.*, 2015; ZHANG, *et al.*, 2015), além de ser eficaz no tratamento da diabetes (LI *et al.*, 2014; AHN *et al.*, 2015; SASIKUMAR *et al.*, 2017).

Essas ações consequentes da cepas de *Lactobacillus plantarum* fazem dela uma boa opção probiótica para estudos futuros, onde o objetivo é a promoção de saúde e bem estar do indivíduo.

2.3 Resíduos de alimentos

O desperdício de alimentos é de grande preocupação tanto do ponto de vista econômico quanto para o meio ambiente (TEIXEIRA *et al.*, 2018). Segundo a ASSEMAE (Associação Nacional dos Serviços Municipais de Saneamento), estima-se que o Brasil gera

aproximadamente 37 milhões de toneladas de lixo orgânico ao ano, no entanto sugere-se que apenas 1% seja reaproveitado.

Resíduos de alimentos como folhas e caules são muitas vezes considerados lixo orgânico por indústrias de alimentos e pelo consumidor final, visto que, não se tem uma importância econômica atrelada. No entanto, pesquisadores comprovam que o reaproveitamento de resíduos de vegetais pode ter uma gama de substâncias benéficas à saúde ainda pouco exploradas (NINFALI; ANGELINO, 2013; ZHANG, LU; SUN, 2018).

Partes não comestíveis de vegetais integram o grupo dos resíduos pouco empregados pela indústria de alimentos e os estudos em torno do assunto ainda são escassos. Quando ocorre o reaproveitamento de resíduos agroindustriais, agrega-se um valor econômico nesse resíduo, além da exploração mais abrangente dos compostos bioativos presentes neles, como os fitoquímicos, flavonóides, pigmentos, vitaminas, minerais, ácidos graxos, fibras entre outros (SANTOS *et al.*, 2016).

Os fitoquímicos estão amplamente distribuídos na natureza, desde raízes até as folhas (SINGH; KUMAR; MALIK, 2017), sendo assim os resíduos gerados no processamento de vegetais e descartados pelo consumidor ainda podem conter grandes quantidades dessas substâncias bioativas, podendo ser reaproveitadas e inseridas em novos produtos alimentícios a fim de aumentar o valor nutricional dos mesmos (TEIXEIRA *et al.*, 2018)

2.4 Beterraba vermelha (*Beta vulgaris* L.)

A beterraba de mesa (*Beta vulgaris* L.) é uma raiz comestível pertencente à família das *Chenopodiaceae*, originária da região Mediterrânea, comumente consumida em sua forma crua, (KAPADIA; RAO, 2013), além de ser uma das principais representante na extração de pigmentos pela indústria de corantes naturais devido sua cor intensa vermelho-arroxeadada (SALAZAR-ORDÓÑEZ; PÉREZ-HERNÁNDEZ; MARTÍN-LOZANO, 2013).

A beterraba apresenta em sua estrutura duas principais partes, uma aérea e outra raíz. Na parte aérea observa-se os caules/talos (GOMES *et al.*, 2019) avermelhados e as folhas esverdeadas (RODRIGUEZ-AMAYA, 2019), e da parte das raízes obtém-se a parte do vegetal que é usualmente comestível e que também é utilizada pela indústria para a extração do pigmento avermelhado, majoritariamente representados pelas betalaínas (TIVELLI *et al.*, 2011).

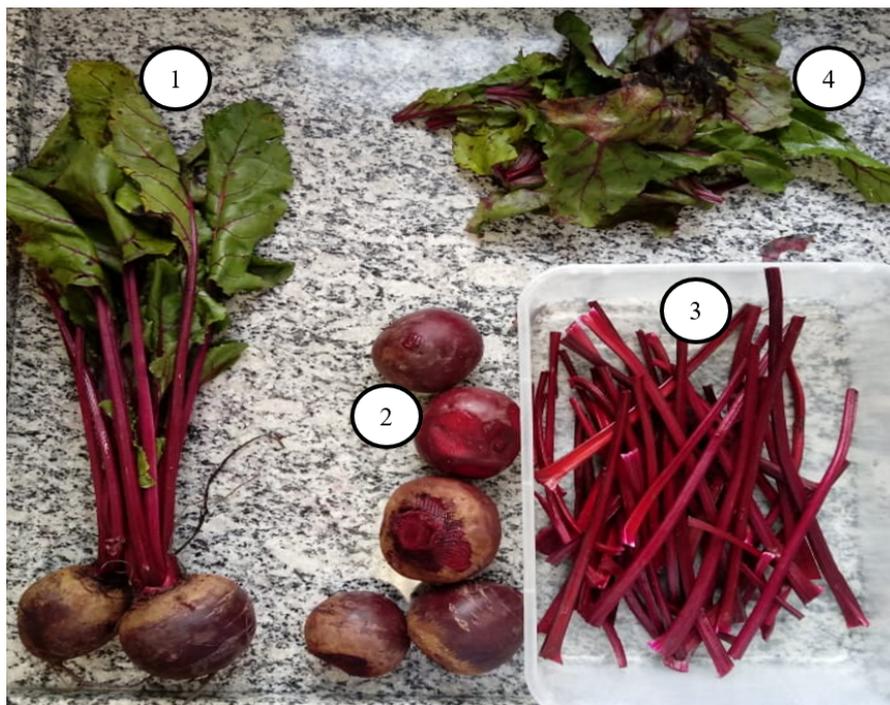


Figura 1 – Partes da beterraba onde, 1 representa o maço completo de beterraba *in natura*; 2 a raiz comestível, 3 o caules e 4 as folhas da beterraba.

Fonte: Autor, 2019.

Além de seu potencial tecnológico, a beterraba é uma fonte rica de compostos que garantem ao indivíduo uma alimentação forte e completa, apresentando em sua composição vitaminas A, vitaminas do complexo B, ferro, cálcio, fósforo dentre outros micronutrientes (Tabela 1).

Tabela 1 - Composição centesimal: partes aéreas e raiz de beterraba (TRANI et al., 1993; TIVELLI *et al.*, 2010; MELO; FARIA, 2014).

Componentes	Parte Aérea - caule e folhas	Raiz - comestível
Umidade (%)	92,17	87,3
Cinzas (g/100g)	1,74	1,1
Proteínas (g/100g)	1,80	1,6
Lipídios (g/100g)	0,05	0,1
Carboidratos (g/100g)	4,23	9,9
Valor Calórico (g/100g)	24,59	43

Do mesmo modo, apresenta compostos além dos tradicionais que são considerados benéficos à saúde, onde podem atuar no tratamento ou prevenção de doenças. Dentre esses compostos destacam-se as betalaínas (classe de pigmentos majoritários) (figura 3) que estão relacionados a uma excelente ação antioxidante, antiinflamatória, hepatoprotetora e antitumoral (GLISZCZYŃSKA-ŚWIGŁO; SZYMUSIAK; MALINOWSKA, 2006; GEORGIEV, *et al.*, 2010; GENGATHARAN *et al.*, 2015; FARABEGOLI *et al.*, 2017; NIKAN; MANAYI, 2019; PRECZENHAK *et al.*, 2019).

Os pigmentos presentes na beterraba estendem-se da raiz até o caule, incluindo algumas partes da folha. A coloração característica vermelho-violeta se dá pela presença do grande grupo das betalaínas, subdividindo-se em betacianinas (vermelho) em menores proporções as betaxantinas, pigmento que confere uma coloração amarelo-laranja (KHAN; GIRIDHAR, 2015; GANDÍA-HERRERO; ESCRIBANO; GARCÍA-CARMONA, 2016).

Sugere-se que o mecanismo de ação antioxidante atrelado a esse pigmento, está associado a sua capacidade de conceder elétrons a moléculas oxidativas presentes no organismo (GLISZCZYŃSKA-ŚWIGŁO; SZYMUSIAK; MALINOWSKA, 2006), relata-se ainda, que estes pigmentos apresentam capacidade de eliminar em torno de 75% dos radicais ânion superóxido (GEORGIEV *et al.*, 2008; ČANADANOVIĆ-BRUNET *et al.*, 2011). Os principais fatores com extrema relevância associado a estabilidade desse pigmentos são identificados como a sensibilidade a algumas variações de pH, temperatura de exposição, atividade de água, exposição a luz e o oxigênio, além da degradação por enzimas presentes no próprio vegetal (HERBACH; STINTZING; CARLE, 2006; ESATBEYOGLU *et al.*, 2015).

2.5 Microencapsulação

Há décadas, já se tem conhecimento da existência de algumas técnicas de microencapsulação, onde vem-se ganhando espaço com aplicações nas mais distintas áreas, como a farmacêutica, cosmética e alimentar (KIDCHOB; KIMURA; IMANISHI, 1996; SEFTON *et al.*, 2000, DRUSCH; MANNINO, 2009). A microencapsulação compreende um processo em que ocorre o aprisionamento de substâncias de interesse (núcleo ou material ativo) em um sistema de revestimento. As substâncias que são microencapsuladas se apresentam, geralmente, no estado líquido ou sólido, podendo também ser um gás (SILVA, *et al.*, 2014).

Existem diferentes técnicas utilizadas para microencapsulação, sendo por métodos físicos (extrusão, *spray drying*, *spray chilling* e *spray cooling*, leite fluidizado, co-cristalização e a liofilização), métodos químicos (polimerização interacila, inclusão molecular e polimerização *in situ*) e métodos físico-químicos (coacervação, lipossomas, lipoesferas, evaporação de solvente) (SAIFULLAH *et al.*, 2019), onde leva-se em consideração características como polaridade das moléculas envolvidas, pH, sensibilidade do composto, aplicação pretendida, além do diâmetro médio esperado, que pode variar de 1 a 1000 μm (ORIVE *et al.*, 2004).

Um dos métodos mais utilizados para microencapsular compostos bioativos é o *spray drying* (GHARSALLAOUI *et al.*, 2007, ENCINA *et al.*, 2016), sendo esse de fácil manipulação, aplicação, além de ser um processo contínuo, economicamente viável pois mantém as propriedades iniciais dos produtos, fornecendo microcápsulas secas onde viabiliza a lenta ou nulas reações químicas que possam ocorrer na presença do meio aquoso, além disso, pode ser facilmente reproduzida em escala industrial (KESHANI *et al.*, 2015; SINGH; VAN DEN MOOTER, 2016; O'SULLIVAN *et al.*, 2019).

No processo de microencapsulação por *spray drying* se faz necessário compreender algumas etapas sequenciais (Figura 2). Inicialmente a substância a ser microencapsulada, será misturada a uma solução aquosa contendo o material de encapsulação (1), em seguida essa mistura será levada ao equipamento em condições previamente determinadas. A mistura sob agitação, será carregada para dentro do sistema (2) entrando em contato com uma corrente de ar quente (3) onde ocorrerá a evaporação do solvente (4), assim transcorrerá uma ligeira solidificação das gotículas, que posteriormente serão arrastadas até o ciclone (5) e recolhidas ao término do processo (6).

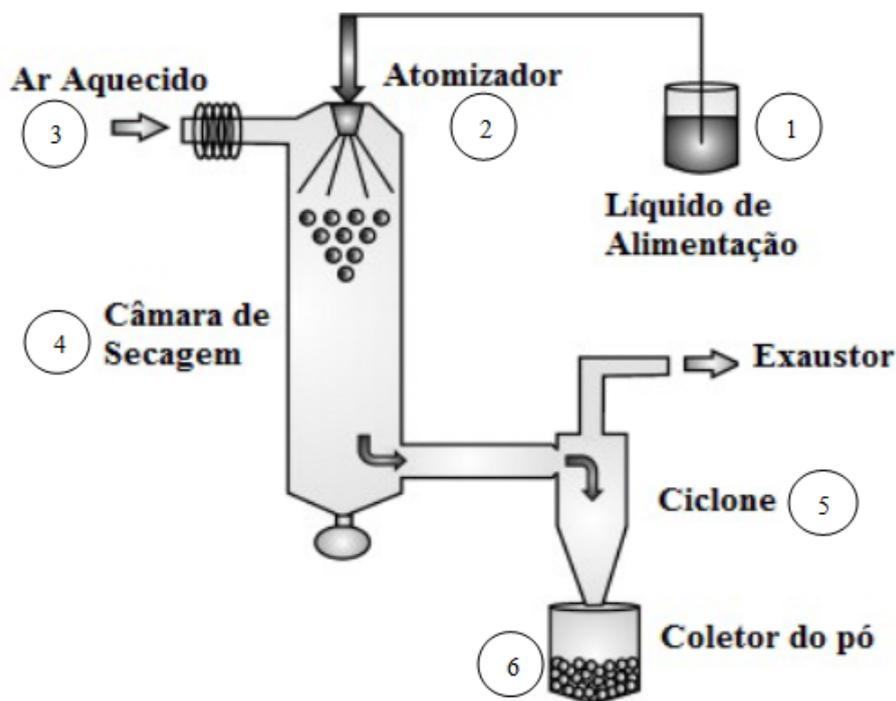


Figura 2 – Representação do funcionamento e as principais etapas de um *Spray dryer*

Fonte:(SOSNIK; SEREMETA, 2015)

Embora o processo aparente ser de fácil reprodutibilidade e adaptação, deve-se levar em consideração os materiais de parede a serem utilizados, pois cada polímero comporta-se de diferentes maneiras, diferenciando-se quanto à resistência, flexibilidade, impermeabilidade e estabilidade, além de contribuir na termorresistência das substância durante o processo de secagem (VENKATESAN; MANAVANAN; VALLIAPPAN, 2009).

Polímeros como a maltodextrina, trealose e goma arábica tem sido amplamente aplicado, pois apresenta habilidades de proteção do material microencapsulado frente a oxidação, degradação, proteção aos fatores extrínsecos como luz e oxigênio (SILVA, *et al.*, 2014; BARRETO; GUILLERMO; ETCHEPARE, 2015; SHISHIR; CHEN, 2017), além de apresentar características como: baixa higroscopicidade, viscosidade e custo, ainda com elevada capacidade de solubilização e boa retenção de voláteis (DELIA *et al.*, 2018).

Estudos recentes vêm evidenciando o potencial da microencapsulação de compostos bioativos (probióticos, fenólicos, pigmentos) com polímeros como a maltodextrina, a fim de promover a proteção desses compostos. JANISZEWSKA em 2014 microencapsulou suco de beterraba em *spray drying* usando maltodextrina e goma arábica, onde observou que ambos os materiais de paredes foram eficientes no aprisionamento do pigmento da beterraba (betalaínas). ROSA e colaboradores em 2019, utilizaram maltodextrina e hi-maize como materiais de parede para microencapsular extrato de mirtilo. Os autores observaram que, a

microencapsulação manteve a estabilidade dos compostos, além de protegê-los frente às condições simuladas do sistema gastrointestinal. Já a trealose é um dissacarídeo que vem sendo destacado como tendência na microencapsulação, considerado um potencial agente termoprotetor para estudos em *spray dryer* (RÓŻYŁO, 2020), caracterizada como um bioprotetor devido sua formação de sólidos amorfos sob alta temperatura de transição vítrea (PATIST & ZOERB, 2005; GONZÁLEZ-ORTEGA et al., 2020).

Em 2021, MARCILLO-PARRA et al., e SAMBORSKA et al. realizaram estudos elucidando amplamente os principais agentes para a microencapsulação, os benefícios da utilização de diferentes técnicas, além de explicar as possíveis aplicações em alimentos respectivamente.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Este estudo teve como objetivo a co-encapsulação de bactérias probióticas (*L. plantarum*) com o extrato aquoso do caule de beterraba (*Beta vulgaris L.*) a fim de avaliar a influência dessa co-encapsulação na viabilidade probiótica e na proteção das betalaínas

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Co-encapsular probiótico e o extrato aquoso do caule de beterraba nas condições de microencapsulação por *spray drying*, através da utilização de diferentes concentrações do extrato, combinando os materiais de parede: goma arábica, trealose e maltodextrina;
- Caracterização físico-química das microcápsulas (microscópio eletrônico de varredura - MEV e diâmetro médio de partícula);
- Avaliar a estabilidade e resistência das microcápsulas frente às condições que simulam o ambiente gástrico e intestinal;
- Avaliar a viabilidade das microcápsulas com probiótico e betalaínas em diferentes temperaturas (-18 °C, 8 °C e 25 °C) nos dias 1, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105 e 120 de armazenamento;
- Avaliar a sobrevivência dos probióticos e estabilidade do extrato frente a diferentes condições de tratamentos térmico: pasteurização rápida (72 °C por 15 segundos) e lenta (63 °C por 3 minutos);

- Avaliar a influência, viabilidade e estabilidade de ambos compostos juntos.

MANUSCRITO 1**Extração de pigmentos bioativos do caule de beterraba vermelha e estudo de sua estabilidade**

Este trabalho está em processo de avaliação para publicação no e-book “Compostos Bioativos e suas Aplicações”

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

Cassandra de Deus*, 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. E-mail: cassandradeus@hotmail.com

Simara Somacal, 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. E-mail: s.somacal@gmail.com

Thaiane Marques da Silva, 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. E-mail: thaianemsilva@hotmail.com

Eduardo Jacob Lopes, 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. E-mail: ejacoblopes@gmail.com

Leila Queiroz Zepka, 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. E-mail: zepkaleila@yahoo.com.br

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. E-mail: cristiano.ufsm@gmail.com

* Autor para correspondência: cristiano.ufsm@gmail.com

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 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 e -18°C), o 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 passando a um marrom/amarelado. Considerando os resultados obtidos nesse estudo, conclui-se que a extração de betalainas 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: Betalainas, bioativos, degradação, subprodutos, reaproveitamento.

1. INTRODUÇÃO

A beterraba é um tubérculo mundialmente conhecido e consumido, com grandes benefícios 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 betalainas, 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 betalainas (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 betalainas, observa-se uma maior eficiência no processo (Nirmal, Mereddy e Maqsood, 2021). Portanto, esse estudo tem como objetivo principal, promover a extração de betalainas 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 NaClO 2% (hipoclorito de sódio), posteriormente liofilizado por 24h, triturado em moinho de facas, em seguida o pó obtido foi congelamento (-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 (80g / m), 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 betalainas do extrato do caule de beterraba foi realizada seguindo o item 2.3 por 7 dias consecutivos.

2.3 Quantificação de Betalainas totais

As betalainas 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 betalainas totais presentes no extrato. Para analisar as betalainas 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.

Equação 1. $\text{Betalainas totais mg/L} = A \times DF \times MW \times 1000 / E \times L$

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), E é a absorção molar (60.000 L/moL.cm) 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% ($p < 0,05$).

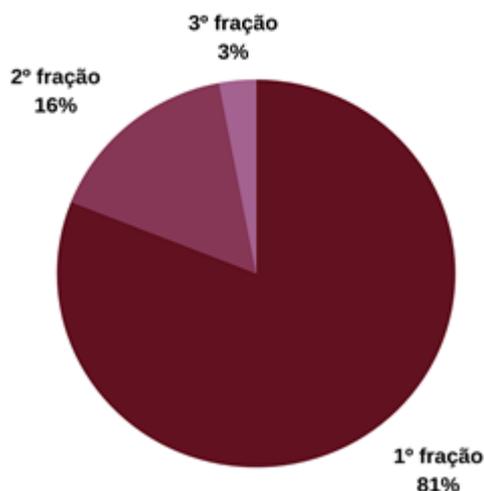
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Extração de betalainas

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 betalainas 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 betalainas e os compostos bioativos presentes, e por consequência contribuir com a cor (avermelhada) atrativa ao produto.

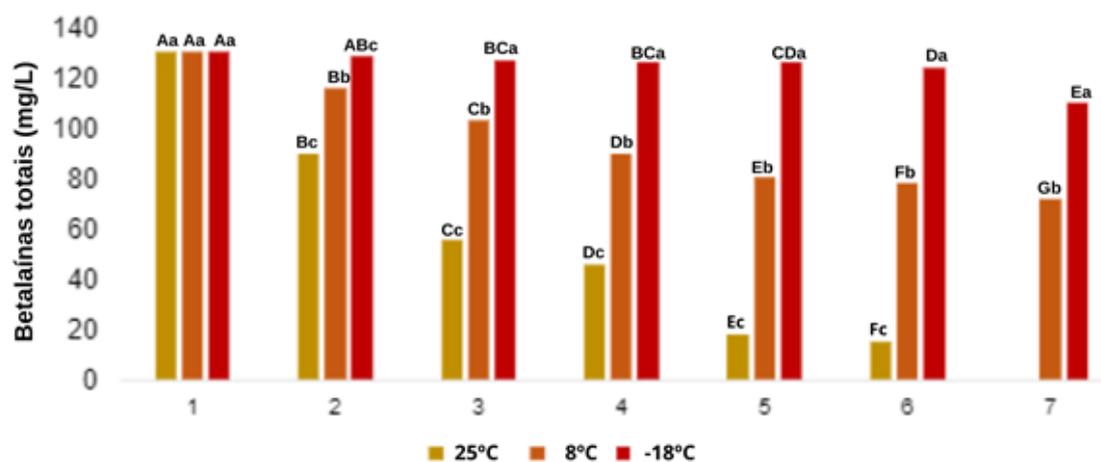
Figura 1. Frações da extração exaustiva do caule de beterraba vermelha.



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 7º dia de análises.

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

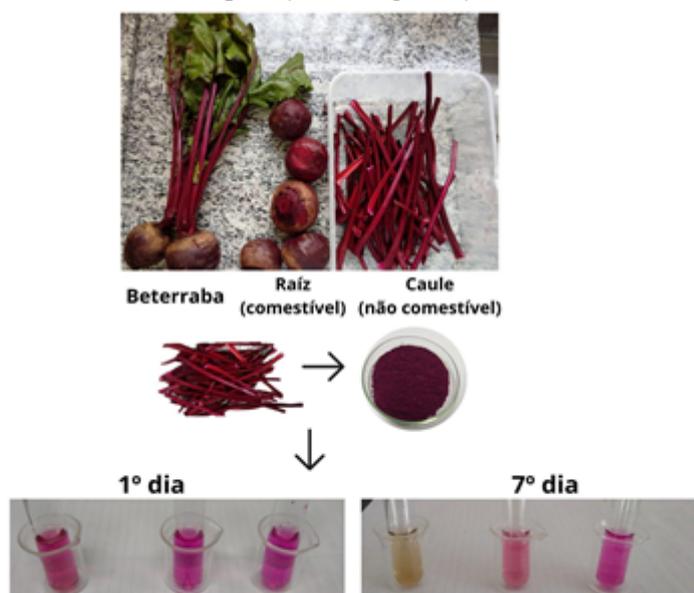


Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na coluna e minúsculas na linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% significado. Médias obtidas em triplicatas.

Essa veloz degradação nos últimos dias do extrato acondicionado em 25°C 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 pigmentos avermelhados misturando betalaínas e antocianinas, em 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), dispendo 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, diminuimos 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 trials Nitric 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 betalainas

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) Britton & Rose] monitored by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometric analyses. **European Food Research and Technology**, v. 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, Katarzyna; 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 für 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>

YANG, W., Kaimainen, M., Järvenpää, E., Sandell, M., Huopalahti, R., Yang, B., & Laaksonen, O. Red beet (*Beta vulgaris*) betalains and grape (*Vitis vinifera*) anthocyanins as colorants in white currant juice – Effect of storage on degradation kinetics, color stability and sensory properties. **Food Chemistry**, v. 348, p. 128995, 2021. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2020.128995>

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.

MANUSCRITO 2

Betaláínas de beterraba vermelha: uma revisão no contexto tecnológico e na saúde

Este trabalho está em fase de revisão para ser submetido à revista Ciências Rural (qualis B1)

Betalainas de beterraba vermelha: uma revisão no contexto tecnológico e na saúde

Cassandra de Deus^{1*}, Naiara Hennig Neuenfeldt², Simara Somacal³, Thaianne Marques da Silval⁴, Milene Teixeira Barcia⁵, Cristiano Ragagnin de Menezes⁶

¹Mestranda em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil

²Mestra em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil

³Doutoranda em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil

⁴Doutora em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil

⁵Doutora em Ciência de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, SP, Brasil

⁶Doutor em Ciência de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, SP, Brasil

RESUMO

Historicamente os vegetais estão inseridos em nossa alimentação, no entanto seu consumo destinava-se apenas à saciedade e nutrição. A beterraba é um dos vegetais popularmente consumidos que revelam um potencial que vai além da saciedade, estando presente em processos tecnológicos (extração de pigmentos) bem como um eficaz alimento promotor de saúde e bem estar. Os benefícios a ela atrelados a saúde e bem-estar, se dão por conta de um composto bioativo em especial, as betalainas. Pigmento avermelhado associado então a efeitos positivos à saúde, sendo já evidente essa relação com doenças metabólicas. Este artigo tem a intenção de revisar o potencial tecnológico das betalainas obtidas do tubérculo beterraba frente a parâmetros benevolentes a saúde e a tecnologia, tais como, atividade antioxidante, antimicrobiana, anticâncer, antilipidêmica e outras doenças da sociedade atual,

revelando assim um potencial agente na aplicação de medicamentos alternativos e na alimentação, como o desenvolvimento ou melhoramento de alimentos funcionais.

Palavras-chave: Beterraba; pigmento avermelhado; saúde; tecnologia.

INTRODUÇÃO

Tradicionalmente, as plantas inseridas na dieta humana trazem nutrição e saciedade, no entanto os benefícios vão além, e revelam em sua composição ingredientes biologicamente ativos que podem desempenhar um papel fisiológico na promoção da saúde humana, ainda que demande mais estudos clínicos em humanos (Veiga et al., 2020). Dentre as inúmeras plantas consumidas, a beterraba (*Beta vulgaris*) vem ganhando espaço pois já se sabe da relação do consumo deste vegetal aos seus efeitos positivos à saúde, sendo já evidente essa relação com doenças metabólicas (Mirmiran et al., 2020), problemas cardiovasculares (Gomes et al., 2019), diabetes (Mahmoud Abbas, 2021; Micheletti Lorizola et al., 2021), câncer (Albrahim & Alonazi, 2020) entre outras enfermidades da sociedade atual, que seguem sendo tema de estudos (Sharma et al., 2021a).

A crescente busca por alimentos com apelos a saúde vem sendo alvo, estudos vêm evidenciando um grande potencial dos alimentos ditos como “funcionais”, tendenciando o desenvolvimento de novos medicamentos à base de plantas e vegetais, sendo esses, eficazes no combate de diversas doenças que acometem a sociedade atual (Sharma et al., 2021b; Aba & Asuzu, 2018; Chukwuebuka & Chinenye, n.d.). Alimentos como a beterraba vermelha (*Beta vulgaris L*) ganham destaque, vista que é uma raiz (tubérculo) que concentra carboidratos, nutrientes e compostos com funções bioativas benéficas à saúde, sendo então inserida na alimentação humana como um vegetal nutritivo e com mercado em exploração

(Clifford et al., 2015a). Pertencente à família das Chenopodiaceae, a beterraba vermelha tem sua origem relatada na região do Mediterrâneo, tendo um vasto cultivo na América, Europa e Ásia (Zohary & Hopf, 2012). Os nutrientes encontrados nas beterrabas vermelhas são principalmente, vitaminas, minerais, nitratos, carotenoides, flavonoides e betalaínas, sendo esse o principal pigmento que constitui a beterraba. Caracteriza-se pela alta solubilidade em água, estabilidade de pH e poder de tintura (Baião et al., 2020). Os pigmentos vermelhos se dividem em dois vértices principais: betacianinas (cor vermelho-violeta) e betaxantinas (cor amarelo-laranja), ambos com poder nutricional e de melhorar a saúde (Wootton-Beard & Ryan, 2011b).

Notavelmente, se observa um número desproporcional de estudos sobre as betalaínas em comparação a outros pigmentos como antocianinas e carotenoides. Mesmo assim, nos últimos anos foi expressivo os avanços nas pesquisas sobre essa classe de pigmentos. Pesquisas recentes realçam o potencial bioativo atrelado às betalaínas, destacando-se o poder antioxidante, antimicrobiano e desvendando o efeito frente a algumas enfermidades que acometem a sociedade atual, como o câncer, diabetes e lipidemias (Clifford et al., 2015b). Com isso, essa revisão tem o intuito de explicar as betalaínas frente os benefícios à saúde, desafios e perspectivas para esse pigmento majoritariamente obtido de fonte vegetal.

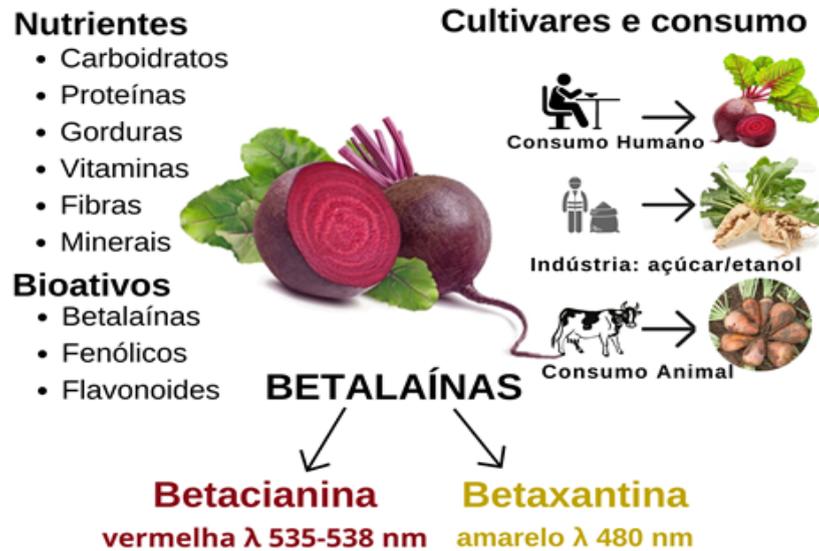
BETERRABA

A beterraba vermelha é um tubérculo mundialmente conhecido e consumido, que chega até a mesa da população na forma de salada, sucos entre outras formulações, que se favorecem principalmente de seu poder de tintura. Além disso, existe um grande grupo de espécies de beterraba, onde se tem múltiplas subespécies pertencente ao gênero *Beta L.*, destacando-se a *Beta vulgaris*, *Beta marítima* e *Beta adanensis* sendo as subespécies mais

típica e presentes comercialmente, igualmente reconhecidas como beterraba comum (alimentação humana - beterraba vermelha) / beterraba açucareira (produção de açúcar e etanol - beterraba branca) e a beterraba forrageira (alimentação animal - beterraba dourada), representada na figura 1, respectivamente (Chhikara et al., 2019; Wootton-Beard & Ryan, 2011a). A origem da beterraba vermelha vem sendo relatada na região do Mediterrâneo e um plantio em maior proporção na Europa, América e Ásia (Zohary et al., 2012; Tanumihardjo et al., 2015).

A beterraba vermelha é um alimento considerado completo, pois contém em sua composição uma gama de macro e micronutrientes que corroboram com a manutenção e melhora da saúde, destacando-se os carboidratos, proteínas, gorduras, vitaminas, minerais, fibras alimentares, compostos fenólicos, agentes antioxidantes e principalmente o pigmento avermelhado denominado betalaínas (Figura 1) (ARIF et al., 2021; Tivelli et al., 2004). Estudos elucidam que esse pigmento é o agente majoritário da beterraba responsável por promover benefícios à saúde através da potente ação antioxidante exercida no organismo humano (Figura 1) (Sharma et al., 2021; Arif et al., 2021). Estudos elucidam que esse pigmento é o agente majoritário da beterraba responsável por promover benefícios à saúde através da potente ação antioxidante exercida no organismo humano (Figura 1) (Sharma et al., 2021).

Figura 1. Beterraba e suas distintas espécies e composição.



Fonte: Autor, 2020.

BETALAÍNAS

Chenopodiaceae é uma ordem de plantas responsáveis pela biossíntese dos pigmentos de betalaínas que se caracterizam por colorações vermelhas / violetas e amarelas / alaranjadas, e os grandes representantes dessa ordem são as flores e vegetais como a beterraba vermelha. As betalaínas são originadas a partir de um alicerce comum, o ácido betalâmico (cromóforo), que se condensa com o ciclo-3,4-di-hidroxifenilalanina (ciclo-DOPA) ou com aminoácidos e/ou aminas, logo dão origem a estruturas de betacianinas e betaxantinas respectivamente (Miguel, 2018; Qin et al., 2020). Essas duas estruturas de pigmentos formadas diferenciam-se principalmente na intensidade de cor gerada, sendo que as betacianinas apresentam uma máxima absorção em aproximadamente 535-538 nm (Herbach et al., 2004; Khan & Giridhar, 2015; Gengatharan et al., 2015; Polturak & Aharoni, 2018), e as betaxantinas em geral, denotam máxima absorção em 480 nm, sendo visíveis na tonalidade amarelada (figura 1) (Khan & Giridhar, 2015; Polturak & Aharoni, 2018).

As betalaínas são pigmentos particularmente polares sendo assim solúveis em água (Esatbeyoglu et al., 2015; Polturak & Aharoni, 2019), além disso revelam ser estáveis a uma ampla faixa de pH - 3 a 7, porém sua estrutura e coloração podem ser potencialmente modificada se exposta a condições de pH alcalino (pH 8-14), assim por consequência, desperta a curiosidade tanto no ponto de vista econômico quanto científico (Qin et al., 2020). Nos últimos anos evidenciou-se a principal via responsável pela biossíntese envolvendo essa classe de pigmentos (Polturak & Aharoni, 2018; Miguel, 2018; Khan & Giridhar, 2015). Após numerosos estudos, elucidou-se em partes o comportamento e as reações que norteiam os pigmentos de betalaínas oriundo do reino vegetal.

Dentre os parâmetros de estabilidade que norteiam as betalaínas, destaca-se principalmente a resistência do pigmento em ampla faixa de pH (3 - 7), fazendo com que se destaquem em relação às antocianinas, que são pigmentos também com tonalidades avermelhados porém estáveis apenas em pH 1 – 4, assim acabam por perder sua cor com o aumento do pH, sendo essa instabilidade refletida na cor e na estabilidade química desses compostos antociânicos, desfavorece o uso das antocianinas pela indústria (Hrazdina et al., 1977; Heredia et al., 1998).

ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Os antioxidantes são moléculas capazes de atrasar ou bloquear os efeitos nocivos da produção de oxigênio e impossibilitam a ação de radicais livres danosos ao corpo, aprisionando-os e paralisando-os, assim, o impacto principal dos antioxidantes está em proteger as células sadias contra as ações de radicais livre (Xu et al., 2021). Esses processos de combate aos radicais livres ocorrem de forma natural no reino das plantas como uma forma de defesa, e na beterraba a maior parte responsável pela capacidade antioxidante está

atrelado ao pigmento betalaínas. Um estudo foi publicado por (Sawicki et al., 2016) onde oportuniza a observação da atividade antioxidante presente em treze variedades de beterraba vermelha com ensaios *in vitro* (fotoquimiluminescência (PCL), sal de diamônio (ABTS), e 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH)). Os autores observaram uma atividade antioxidante positiva e significativa onde correlacionam esse resultado com o teor de betalaínas presente, já que houve uma abstenção dos radicais e potenciais anti-radicalar nocivos (Brand-Williams et al., 1995). Além disso, descrevem a existência de uma impressão digital de betalaínas, isso significa que há uma capacidade antioxidante específica para cada variedade de beterraba vermelha analisada, visto que, todas as amostras reproduziram resultados diferentes de capacidade antioxidante. Essa característica singular descrita foi verificada nos estudos de (Sawicki & Wiczowski, 2018), onde avaliaram o impacto da fermentação no perfil, no conteúdo e na capacidade antioxidante de betalaínas de beterraba vermelha, onde os resultados coincidem com o estudo anterior, no qual reconhece que cada material de beterraba apresentou uma característica antioxidante distinta e única. Outro estudo, avaliou *in vitro* a atividade antioxidante, anticoagulante e a toxicidade de extrato do suco de beterraba vermelha (Edziri et al., 2019). Esse estudo potencializa as informações sobre a ação antioxidante da beterraba, demonstrando valores relevantes de metabólitos fenólicos (39,75 mg de GAE/ g) e flavonoides (20,73 mg de CE / g). Esses compostos estudados já foram relatados como agentes redutores (Taira et al., 2015), doadores de elétrons e com poder inibitório de oxigênio (Özyürek et al., 2008). Os resultados para a ação anticoagulante e a toxicidade do extrato analisado se mostraram positivos e promissores, sendo relatados como surpreendentes para ambos os testes, ainda, consta que os extratos metabólicos de beterraba vermelha são desprovidos de total efeito citotóxico com a afirmação da falta de genotoxicidade. Com tudo, os resultados consolidam uma alegação relevante e atual de uma

nova fonte de compostos bioativos que tem grande potencial para futuros estudos no tratamento de diversas doenças e problemas de saúde da sociedade atual.

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Agentes antimicrobianos obtidos em extrato dos resíduos de beterraba, foram aplicados diretamente em formulações de smoothie (bebida de frutas / vegetal) sobre a possibilidade de uma ação antimicrobiana presente nesse extrato (Fernandez et al., 2020). A ação antimicrobiana foi analisada frente às bactérias *Listeria innocua*, *Escherichia coli* e *Saccharomyces cerevisiae*, ocorrendo então a redução das contagens de 1 a 3 log nos testes com *L. innocua*, já com *Escherichia coli* observou-se um comportamento bacteriostático, seguidamente da identificaram da redução significativa em contagens de *S. cerevisiae*. Esses resultados podem ser esclarecidos através da relação dos compostos antioxidantes presentes na beterraba (fenólicos, terpenos e saponinas) (Ramos et al., 2017) por meio de alterações potencialmente destrutivas na membrana das bactérias estudadas, como mudanças na integridade da membrana, hidrofobicidade e carga superficial, seguidas do extravasamento de conteúdos intracelulares e por fim morte celular (López-Romero et al., 2018). O efeito do extrato natural de beterraba vermelha foi reavaliado frente a bactérias classificadas como gram-negativas (*E. coli*) e gram-positivas (*Staphylococcus aureus*) (Buruc et al., 2015), assim, foi possível esclarecer mais sobre ação antimicrobiana exercida por esse extrato. Descreve-se que as bactérias gram-negativa foi a que mais sofreu ação do extrato de beterraba, pois sua parede celular é constituída de grandes quantidades de lipídios e por tanto, teve maior ação de solubilização dos agentes funcionais do extrato, enquanto isso, as bactérias gram-positivas revelaram atividade desigual a ação dos compostos de beterraba, tenda em vista que, denotam de uma parede celular com menos lipídios e com expressiva

quantidade de peptidoglicanos (Beveridge, 1999), dificultando assim a ação dos compostos naturais extraídos de beterraba vermelha. Os estudos elucidam o grande potencial de aplicação desses compostos não apenas nos ganhos nutricionais, mas também como agentes antimicrobianos elevando a vida de prateleira de produtos perecíveis, levando assim vantagens para as indústrias e produtores de alimentos.

EFEITOS SOBRE DOENÇAS DA SOCIEDADE ATUAL

O câncer é uma enfermidade que atinge a sociedade atual assim como a diabetes e as lipidemias (problemas relacionados aos níveis de lipídios totais, colesterol total e triglicerídeos) (White et al., 2016). Em vista disso, pesquisas vêm sendo desenvolvidas a fim de identificar uma cura, tratamento ou prevenção dessas e outras enfermidades. A beterraba vem ganhando destaque nas pesquisas, pois é de fácil acesso e comprovadamente rica em compostos bioativos com potenciais ainda em exploração, os estudos com o pigmento de beterraba (betalaínas) vem sendo desenvolvidos a fim de evidenciar alguns benefícios frente a doenças. Assim, a combinação de betalaínas (betacianinas e betaxantinas) de raízes de beterraba vermelha (*Beta vulgaris var. rubra L.*) em conjunto com compostos antioxidantes da classe dos flavonoides (vitexina) extraída de acelga (*Beta vulgaris cicla L.*) foi testada, e apresentou um potente efeito sinérgico diante de linhagens celulares cancerígenas do cólon (Farabegoli et al., 2017), além disso, o extrato de beterraba e betaínas (classe das betalaínas) foi aplicado com sucesso em células do câncer colorretal (Saber et al. 2020), logo, o extrato se mostrou significativamente eficiente na inibição do crescimento de linhagens celulares cancerígenas, realçando assim, os efeitos anti-inflamatório desses compostos (Lechner & Stoner, 2019). Esses resultados (tabela 1) irão possibilitar a expansão das ferramentas quimiopreventivas naturais para indivíduos com câncer e outras comorbidades.

Tabela 1. Estudos com extratos ricos em betalaínas frente algumas doenças que acometem a sociedade atual.

Fonte	Enfermidade	Resultados	Referências
Beterraba (<i>Beta vulgaris</i>)	Doença cardiovascular	O consumo do suco de beterraba durante a pandemia de COVID-19 é recomendado, a fim de diminuir algum risco à saúde cardiovascular proveniente do confinamento.	(Volino-Souza et al., 2020)
Beterraba (<i>Beta vulgaris</i>)	Atividades biológicas	Forte atividade antioxidante e antígeno tóxica, além de ser desprovida de citotóxicos e apresenta nula intervenção em atividades enzimáticas testadas.	(Koss-Mikołajczyk et al., 2019)
Extrato de beterraba vermelha (<i>Beta vulgaris</i>)	Isquemia	Protege a mucosa jejunal e o parênquima pulmonar, reduzir as células inflamatórias, efeito protetor em lesões do parênquima pulmonar e mucosa jejunal, ação anti-inflamatória. Sugere uma melhora de 100% na arquitetura histológica após o tratamento.	(Toth et al., 2019)
Peras espinhosas (betalaínas)	Diabetes tipo 2	Atividade antioxidante, anti-hiperglicêmica, anti-inflamatória, inibição de enzimas relacionadas ao diabetes tipo 2 e potencial nutra-farmacêutico.	(Gómez-Maqueo et al., 2019)
Beterraba vermelha (<i>Beta vulgaris</i>)	Doenças cardiovasculares	Redução significativa da concentração de homocisteína, glicose, triglicerídeos, colesterol total, redução da pressão sanguínea sistólica (contração) e diastólica (repouso).	(Rahimi et al., 2019)
Betanina industrializada	Diabetes	Redução dos níveis de glicose plasmática, insulina, subprodutos da peroxidação lipídica, promovendo impactos benéficos sobre os rins e validou o efeito protetor de betanina em ratos diabéticos.	(Indumathi et al., 2018)
Betanina industrializada	Diabetes tipo 2	Melhora da insulina, benéficos na homeostase da glicose, restauração dos níveis de carboidratos e enzimas metabólicas, além do potencial curativo da betanina frente a danos no pâncreas e fígado.	(Dhananjayan et al., 2017)
Caules e folhas de beterraba (<i>Beta vulgaris</i> L.)	Obesidade	Reduzir os danos ao fígado causados por uma dieta hiperlipídica, melhora dos parâmetros metabólicos pela ação de compostos bioativos presentes (flavonóides).	(Lorizola et al., 2018)
Beta vulgaris var. (cicla L) e Beta vulgaris var (rubra L)	Câncer	Ação anti-inflamatória, antioxidante, quimiopreventiva, antitumoral, e efeito citotóxico.	

Beterraba (<i>Beta vulgaris</i>)	Câncer de mama	Agente anticâncer, com efeito antiproliferativo nas células de câncer de mama, mostrando-se capaz de suprimir a proliferação e a formação de células tronco do câncer de mama.	(Liu et al., 2020)
Beterraba (<i>Beta vulgaris</i>)	Anemia	Aumento da hemoglobina, proteínas, fibras, cálcio, fósforo e ferro, além do controle e reversão do estresse oxidativo, bem como um efeito antianêmico.	(Abdo et al., 2021)
Beterraba (<i>Beta vulgaris</i> - enriquecida em nitrato)	Insuficiência respiratória aguda	Resultados promissores, com um aumento dos níveis de nitrato e nitrito no sangue de forma segura, além de avaliar o impacto na fase de convalescença da doença, sendo registrada como a etapa mais adequada para a administração da beterraba enriquecida.	(Files et al., 2020)
Beterraba (extrato concentrado de <i>Beta vulgaris</i>)	Doença de Parkinson	Diminuição dos níveis de superóxido dismutase e catalase, reduzindo significativamente o nível de peroxidação lipídica, restauração das enzimas antioxidantes defensivas no cérebro de ratos, apresentando-se uma poderosa ferramenta protetora contra a doença de Parkinson.	(Nade et al., 2015)
Betalaina (padrão analítico)	Alzheimer	Atenuação dos efeitos da doença de Alzheimer na capacidade de memória e aprendizagem, suprimindo as deficiências de aprendizagem, as lesões de tecido e disfunção colinérgica. Os efeitos positivos, deve-se à potente ação antioxidante deste composto, sendo assim, um promissor agente no tratamento de doenças neurodegenerativas.	(Shunan et al., 2021)
Beterraba (triptofano-betaxantina e betalainas) (<i>Beta vulgaris</i>)	Câncer	Reduziu o crescimento tumoral in vivo no modelo animal <i>Caenorhabditis elegans</i> , reduzindo o tamanho do tumor em 56,4%, prolongou a vida do animal em 9,3%, mostrando-se altamente eficaz e com baixa toxicidade, à vista disso, caracteriza-se com grande potencial fitoquímico, anticâncer, quimioprevenção e de tratamento.	(Henarejos-Escudero et al., 2020)
Folhas de beterraba (<i>Beta vulgaris</i>)	Memória	Apresentou efeitos neuroprotetores, onde o extrato exibiu atividade protetora contra danos cerebrais e de memória. A folha de <i>B. vulgaris</i> pode ser usada como uma erva medicinal devido a altos níveis de compostos antioxidantes e polifenólicos.	(Hajihosseini et al., 2017)
Beterraba (<i>Beta vulgaris</i>)	Danos cerebrais	Potencial agente neuroprotetor no dano cortical inibindo os pró-oxidantes, aumentou as moléculas antioxidantes endógenas corticais, evidenciando a ação contra a neurotoxicidade.	(Albasher et al., 2020)

FATORES QUE INTERFEREM NA ESTABILIDADE DAS BETALAÍNAS

As fontes de betalaínas manifestam cores vibrantes em flores e frutos com restrita ocorrência de espécies produtoras, pois limitam-se a família das *Chenopodiaceae*, sendo encontradas em grande maioria em flores avermelhadas e vegetais como a beterraba vermelha (Tanaka et al., 2008). A exploração desse pigmento natural pela indústria se faz necessária para uma futura substituição dos pigmentos sintéticos que podem estar associados ao aparecimento de problemas de saúde e poluição de águas (Tkaczyk et al., 2020). Porém, a extração das betalaína por indústrias (alimentícia, farmacêutica ou têxtil) tende a ser um desafiador obstáculo em comparação ao uso de corantes sintéticos, pois o pigmento natural de betalaína manifestam baixa estabilidade em situações específicas e assim dificulta a sua aplicação (Herbach et al., 2004; Herbach et al., 2006a). Embora o uso de pigmentos de fontes alternativas seja de difícil aplicação na indústria de alimentos em virtude da tendência em degradar quando expostos a luz e altas temperaturas, crescentes pesquisa estão voltadas para o desenvolvimento de tecnologias a solucionar essa adversidade, assim será possível a ampliação das fontes de pigmentos naturais para futuras aplicações nas indústrias de alimentos.

Os principais fatores que obscurecem a estabilidade das betalaínas durante o armazenamento são os fatores extrínsecos, como temperatura, luz e oxigênio (Herbach et al., 2006b; Cejudo-Bastante et al., 2014). Esses fatores são os principais agentes que causam a instabilidade e degradação das moléculas de betalaínas, sendo assim, os estudos estão focados a desvendar e solucionar essa lacuna da estabilidade desse pigmento.

Do ponto de vista tecnológico a utilização da temperatura se faz inevitavelmente presente nas indústrias, tanto para extrações (pigmentos) como também, para o tratamento térmico (eliminação de contaminantes) (Kayın et al., 2019a), em vista disso, a aplicação de

temperatura é uma ação indispensável durante o processamento. No entanto, um fator limitante é a exposição do pigmento durante a vida de prateleira, pois temperaturas de armazenamento e a incidência de luz se tornam nocivos a estabilidade de betalaínas, uma vez que, alavancam os processos de degradação através de reações como isomerização, descarboxilação e desidrogenação, como resposta, convertem a sua cor vermelho-violeta a um marrom amarelado (Kerr & Varner, 2019; Sonar et al., 2019). Um estudo publicado em 2019 por (Kayın et al., 2019b), avaliou o efeito da temperatura e da incidência de luz em suco concentrado de beterraba vermelha, onde se revalidaram que a luz é um fator importante para evitar a degradação do pigmento, esclarecendo que betaxantinas são mais susceptíveis a degradação que as betalaínas, além de detectarem que a taxa de degradação aumenta quando se tem períodos prolongados de tempo e temperatura de armazenamento, no mais, constataram que em 25°C há uma lenta degradação de que em temperaturas mais altas no mesmo período de tempo, sendo essa uma temperatura favorável para se manter a estabilidade do pigmento, ainda se observou um aumento no conteúdo fenólico, que poder ter ocorrido em virtude da degradação das moléculas de betalaína, sendo esses, os produtos da degradação. Essa tendência também foi relatada no estudo de (Otalora et al., 2020), onde foi estabelecida uma relação da degradação acelerada frente aos parâmetros de tempo e temperatura, além de identificar maior estabilidade em temperaturas de 5°C e 25°C com perdas de até 1%. Além disso, ressalta-se que betacianinas foram mais estáveis que as betaxantinas e aponta que a presença de resíduos de lignina da parede celular das beterrabas pode ter auxiliado na proteção dos pigmentos tendo uma função direta como um agente antioxidante.

INOVAÇÃO E APLICAÇÕES EM ALIMENTOS

Novas abordagens para os pigmentos de betalaínas estão sendo descobertas, pesquisas recentes visam a aquisição do pigmento avermelhado através de novas fontes e tecnologias. Essa atenção recente às betalaínas justifica-se pela abundância de compostos biologicamente ativos e com potenciais efeitos quimiopreventivos. O interesse em descobrir processos confiáveis, repetíveis e escaláveis para a obtenção desse composto é decorrente. O avanço na biotecnologia revelou ser possível a biossíntese de betalaínas por meio de bactérias, sendo a *Gluconacetobacter diazotrophicus* a primeira bactéria a sintetizar betalaínas a partir da ação de uma única enzima, obtendo as betalaína no decorrer de poucas horas. Com isso, expande-se as possibilidades de sintetizar betalaínas por procariontes, em sistemas fechados e condições controladas, deixando de ser um processo restrita a planta da ordem de *Caryophyllales* e de alguns fungos específicos (Contreras-Llano et al., 2019; Guerrero-Rubio et al., 2019).

A aplicação das betalaínas em produtos alimentícios com apelo funcional se mostra promissora, decorrente da elaboração de geleia de beterraba vermelha. Os compostos bioativos presentes (fenólicos, flavonoide e betalaínas), foram parcialmente preservados no produto durante o processamento, além da notável bioacessibilidade resultante da estocagem sob refrigeração (Wang et al., 2020). Já a aplicação do pó de beterraba vermelha em hambúrguer de carne bovino, além da eminente ação antioxidante e antimicrobiana, observou-se uma intensificação da vermelhidão nas amostras, logo acredita-se que o pó de beterraba seja capaz de ampliar a vida útil do produto cárneo (Marrone et al., 2021). Do mesmo modo, o efeito do extrato de beterraba sobre a cor em presuntos cozidos foi promissor, contudo, salienta-se um futuro promissor das betalaínas provenientes de beterraba vermelha na aplicação em produtos cárneos (Dias et al., 2020). Á vista que, é relevante a ampliação desses produtos com apelo funcional, o extrato de beterraba foi adicionado a formulação de uma bebida de beterraba com apelo probiótico atrelado, onde foi notável o aumento

significativo dos bioativos (fenólicos, flavonoides e atividade antioxidante) presentes no produto final. Com tudo, a bebida probiótica não láctea se torna um promissor livre de colesterol e com compostos que irão promover saúde (Panghal et al., 2017).

CONCLUSÃO

As betalainas provenientes da beterraba são pigmentos obtidos de forma particular da família *Chenopodiaceae*, mas destacam-se pela estabilidade em ampla faixa de pH. Os estudos relatados nesta revisão ressaltam o potencial inovador desse pigmento natural na utilização como agente antioxidante, antibactericida, benevolente para a saúde, onde se mostra um potente e inovador elemento na elaboração de novos medicamentos para doenças que acometem a humanidade, enfermidades essas que muitas vezes são tratadas com medicações agressivas, que podem causar inúmeros efeitos colaterais aos pacientes. Ademais, novos estudos vêm sendo desenvolvido em prol de incorporar as betalainas cada vez mais em diferentes alimentos, assim ampliar a gama de produtos funcionais no mercado, promovendo saúde e elevando os aspectos tecnológicos do produto. Com tudo, se faz necessário a busca de tecnologias alternativas para preservar com eficiência esse pigmento durante a vida de prateleira do produto desenvolvido, pois se observa uma instabilidade do pigmento se exposto às condições desfavoráveis durante o armazenamento, como temperaturas, oxigênio e luz. Apesar de ser necessário o cuidado de alguns pontos cruciais para se obter e preservar o pigmento, as betalainas se mostraram um potencial agente de pigmentação natural alternativo para a promoção da saúde e no desenvolvimento de novos produtos alimentares.

7 REFERÊNCIAS

- ABA, P. E., & Asuzu, I. U. . Mechanisms of actions of some bioactive anti-diabetic principles from phytochemicals of medicinal plants: A review. **Indian Journal of Natural Products and Resources**, 9(2), 85–96, 2018.
- ABDO, E. M. et al. Effect of functional beetroot pomace biscuit on phenylhydrazine induced anemia in albino rats: Hematological and blood biochemical analysis. **Journal of Functional Foods**, 78, 104385, 2021. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2021.104385>
- ALBASHER, G., et al. Red Beetroot Extract Abrogates Chlorpyrifos-Induced Cortical Damage in Rats. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, 2020. doi: <https://doi.org/10.1155/2020/2963020>
- ALBRAHIM, T., & Alonazi, M. A. Role of beetroot (*Beta vulgaris*) juice on chronic nanotoxicity of silver nanoparticle-induced hepatotoxicity in male rats. **International Journal of Nanomedicine**, 15, 3471–3482, 2020. doi: <https://doi.org/10.2147/IJN.S248078>
- BAIÃO, D. S. et al. Beetroot, a remarkable vegetable: Its nitrate and phytochemical contents can be adjusted in novel formulations to benefit health and support cardiovascular disease therapies. **Antioxidants**, v. 9, Issue 10, p. 1–36, 2020. doi: <https://doi.org/10.3390/antiox9100960>
- BEVERIDGE, T. J. Structures of gram-negative cell walls and their derived membrane vesicles. **Journal of Bacteriology** , v.181, Issue 16, p. 4725–4733, 1999. doi: <https://doi.org/10.1128/jb.181.16.4725-4733.1999>
- BRAND-WILLIAMS, W. et al. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 28, Issue 1, p. 25–30, 1995. doi: [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- BUCUR, L. et al. Antibacterial activity of red beet - *beta vulgaris* l. Var. *canditiva* alef.- root. **International Multidisciplinary Scientific GeoConference**, v. 1(6), p. 253–258, 2015. doi: <https://doi.org/10.5593/sgem2015/b61/s25.035>
- CEJUDO-BASTANTE, M. J. et al. Potential use of new Colombian sources of betalains. Color stability of ulluco (*Ullucus tuberosus*) extracts under different pH and thermal conditions. **Food Research International**, v. 64, p. 465–471, 2014. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.07.036>
- CHAWLA, H., et al. . Beetroot: A Health Promoting Functional Food. **Nutraceuticals**, v. 1, p. 0976-3872, 2016.
- 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. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.022>
- CHUKWUEBUKA, E., & CHINENYE, I. J. Biological functions and anti-nutritional effects of phytochemicals in living system. **Journal of Pharmacy and Biological Sciences**, v. 10, p. 10-19, 2015. doi: <https://doi.org/10.9790/3008-10231019>
- CLIFFORD, T. et al. The potential benefits of red beetroot supplementation in health and disease. **Nutrients**, v.7, p. 2801–2822, 2015. doi: <https://doi.org/10.3390/nu7042801>

- CONTRERAS-LLANO, L. E. et al. First betalain-producing bacteria break the exclusive presence of the pigments in the Plant Kingdom. **Molecular Biology and Physiology**, v. 10, p. 1 - 12, 2019. doi:<https://doi.org/10.1128/mBio.00345-1>
- DHANANJAYAN, I. et al. Ameliorating effect of betanin, a natural chromoalkaloid by modulating hepatic carbohydrate metabolic enzyme activities and glycogen content in streptozotocin – nicotinamide induced experimental rats. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 88, p. 1069–1079, 2017. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.01.146>
- DIAS, S. et al. Application of natural pigments in ordinary cooked ham. **Molecules**, v. 25, p. 1-13, 2020. doi: <https://doi.org/10.3390/molecules25092241>
- EDZIRI, H. et al. Phytochemical analysis, antioxidant, anticoagulant and in vitro toxicity and genotoxicity testing of methanolic and juice extracts of Beta vulgaris L. **South African Journal of Botany**, v. 126, p. 170–175, 2019. doi: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.01.017>
- ESATBEYOGLU, T. et al. Betanin-A food colorant with biological activity. **Molecular Nutrition and Food Research**, v. 59, p. 36–47, 2015. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201400484>
- FARABEGOLI, F. et al. Betalains increase vitexin-2-O-xyloside cytotoxicity in CaCo-2 cancer cells. **Food Chemistry**, v. 218, p. 356–364, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.112>
- FERNANDEZ, M. V. et al. Enrichment and preservation of a vegetable smoothie with an antioxidant and antimicrobial extract obtained from beet by-products. **LWT - Food Science and Technology**, v. 117, p. 108-622, 2020. doi: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108622>
- FILES, D. C. et al. A randomized pilot study of nitrate supplementation with beetroot juice in acute respiratory failure. **Nitric Oxide - Biology and Chemistry**, v. 94, p. 63–68, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2019.10.009>
- GENGATHARAN, A. et al. Betalains: Natural plant pigments with potential application in functional foods. **LWT - Food Science and Technology**, v. 64, p. 645–649, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.06.052>
- GHASEMPOUR, Z. et al. Development of probiotic yogurt containing red beet extract and basil seed gum; techno-functional, microbial and sensorial characterization. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 29, p. 101-785, 2020. doi:<https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101785>
- GOMES, A. P. O. et al. Organic beet leaves and stalk juice attenuates HDL-C reduction induced by high-fat meal in dyslipidemic patients: A pilot randomized controlled trial. **Nutrition**, v. 65, p. 68–73, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2019.03.004>
- GÓMEZ-MAQUEO, A. et al. Inhibitory potential of prickly pears and their isolated bioactives against digestive enzymes linked to type 2 diabetes and inflammatory response. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 99, p. 6380–6391, 2019. doi: <https://doi.org/10.1002/jsfa.9917>

GUERRERO-RUBIO, M. A. et al. Scaled-up biotechnological production of individual betalains in a microbial system. **Microbial Biotechnology**, 12(5), 993–1002, 2019. doi: <https://doi.org/10.1111/1751-7915.1345>

HAIJHOSSEINI, S. et al. The antioxidant activity of Beta vulgaris leaf extract in improving scopolamine-induced spatial memory disorders in rats. **Avicenna Journal of Phytomedicine**, v. 7, p. 417–425, 2017. doi:<https://doi.org/10.22038/ajp.2017.8821>

HENAREJOS-ESCUADERO, P. et al. Antitumoral drug potential of tryptophan-betaxanthin and related plant betalains in the caenorhabditis elegans tumoral model. **Antioxidants**, v. 9, p. 1–17, 2020. doi: <https://doi.org/10.3390/antiox9080646>

HERBACH, K. M. et al. Betalain stability and degradation - Structural and chromatic aspects. **Journal of Food Science**, v. 71, p. 41-50, 2006. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2006.00022.x>

HERBACH, K.M. et al. Thermal degradation of betacyanins in juices from purple pitaya [*Hylocereus polyrhizus* (Weber) Britton & Rose] monitored by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometric analyses. **European Food Research and Technology**, v. 219, p. 377–385, 2004. doi: <https://doi.org/10.1007/s00217-004-0948-8>

HEREDIA, F. J. et al. Chromatic characterization of anthocyanins from red grapes - I. pH effect. **Food Chemistry**, v. 63, p. 491–498, 1998. doi:[https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00051-X](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00051-X)

HRAZDINA, G. et al. Anthocyanin composition of Brassica oleracea cv. **Red Danish**. **Phytochemistry**, v. 16, p. 297–299, 1977. doi: [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)86817-X](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)86817-X)

INDUMATHI, D. et al. Betanin exhibits significant potential as an antihyperglycemic and attenuating the glycoprotein components in streptozotocin–nicotinamide-induced experimental rats. **Toxicology Mechanisms and Methods**, v. 28, p. 547–554, 2018. doi: <https://doi.org/10.1080/15376516.2018.1471636>

JAHAN, R. et al. Extraction, characterization and biochemical analysis of betacyanins derived from beetroot (*Beta vulgaris*). **Research on Crops**, v. 22, p. 216-223, 2021. doi: 10.31830 / 2348-7542.2021.060.

KAYIN, N. et al. Color stability and change in bioactive compounds of red beet juice concentrate stored at different temperatures. **Journal of Food Science and Technology**, v. 56, p. 5097–5106, 2019. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03982-5>

KERR, W. L., & Varner, A. Vacuum Belt Dehydration of Chopped Beetroot (*Beta vulgaris*) and Optimization of Powder Production Based on Physical and Chemical Properties. **Food and Bioprocess Technology**, 12(12), 2036–2049, 2019. <https://doi.org/10.1007/s11947-019-02351-6>

KHAN, M. I., & Giridhar, P. Plant betalains: Chemistry and biochemistry. **Phytochemistry**, V. 117, p. 267–295, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2015.06.008>

KOSS-MIKOŁAJCZYK, I. et al. The comparison of betalain composition and chosen biological activities for differently pigmented prickly pear (*Opuntia ficus-indica*) and beetroot (*Beta vulgaris*) varieties. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 70(4), p. 442–452, 2019. <https://doi.org/10.1080/09637486.2018.1529148>

LECHNER, J. F., & STONER, G. D. Red beetroot and betalains as cancer chemopreventative agents. **Molecules** Vol. 24, 2019. <https://doi.org/10.3390/molecules24081602>

LIU, R., et al. Betavulgarin isolated from sugar beet (*Beta vulgaris*) suppresses breast cancer stem cells through stat3 signaling. **Molecules**, 25, 2020. <https://doi.org/10.3390/molecules25132999>

LÓPEZ-ROMERO, J. C. et al.. Biological activities of Agave by-products and their possible applications in food and pharmaceuticals. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 98(7), 2461–2474, 2018. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8738>

LORIZOLA, I. M. et al. Beet stalks and leaves (*Beta vulgaris* L.) protect against high-fat diet-induced oxidative damage in the liver in mice. **Nutrients**, 10(7), 2018. <https://doi.org/10.3390/nu10070872>

MAHMOUD ABBAS, M. Protective Effects of Beetroot on Streptozotocin Induced Diabetes in Adult Male Albino Rats. **Bulletin of Egyptian Society for Physiological Sciences**, 41(2), 270–282, 2021. <https://doi.org/10.21608/besps.2020.36641.1069>

MARRONE, R. et al. Effect of beetroot (Beta vulgaris) extract on Black Angus burgers shelf life. **Italian Journal of Food Safety**, 10(1), 2021. <https://doi.org/10.4081/ijfs.2021.9031>

MICHELETTI LORIZOLA, I. et al. Beet (*Beta vulgaris* L.) stalk and leaf supplementation changes the glucose homeostasis and inflammatory markers in the liver of mice exposed to a high-fat diet. **Food Chemistry: Molecular Sciences**, 2, 100018, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.fochms.2021.100018>

MIGUE, M. G. Betalains in some species of the amaranthaceae family: A review. **Antioxidants**, V. 7, Issue 4, 2018. <https://doi.org/10.3390/antiox7040053>

MIRMIRAN, P., HOUSHIALSADAT, Z., GAEINI, Z., BAHADORAN, Z., & AZIZI, F. Functional properties of beetroot (*Beta vulgaris*) in management of cardio-metabolic diseases. **Nutrition and Metabolism**, v,17, p. 1–15, 2020. <https://doi.org/10.1186/s12986-019-0421-0>

NADE, V. S., KAWALE, L. A., ZAMBRE, S. S., & KAPURE, A. B. Neuroprotective potential of *Beta vulgaris* L. in Parkinson's disease. **Indian Journal of Pharmacology**, 47(4), 403–408, 2015. <https://doi.org/10.4103/0253-7613.161263>

OTALORA, C. M., BONIFAZI, E., FISSORE, E. N., BASANTA, F., & GERSCHENSON, L. N. Thermal Stability of Betalains in By-Products of the Blanching and Cutting of *Beta vulgaris* L. var *conditiva*. **Polish Journal of Food and Nutrition Sciences**, 70(1), 15–24, 2020. <http://journal.pan.olsztyn.pl>

ÖZYÜREK, M., BEKTAŞOĞLU, B., GÜÇLÜ, K., & APAK, R. Hydroxyl radical scavenging assay of phenolics and flavonoids with a modified cupric reducing antioxidant capacity (CUPRAC) method using catalase for hydrogen peroxide degradation. **Analytica Chimica Acta**, 616(2), 196–206, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2008.04.033>

PANGHAL, A., VIRKAR, K., KUMAR, V., DHULL, S. B., GAT, Y., & CHHIKARA, N. Development of probiotic beetroot drink. **Current Research in Nutrition and Food Science**, 5(3), 257–262, 2017. <https://doi.org/10.12944/CRNFSJ.5.3.10>

POLTURAK, G., & AHARONI, A. “La Vie en Rose”: Biosynthesis, Sources, and Applications of Betalain Pigments. **Molecular Plant** (Vol. 11, Issue 1, pp. 7–22, 2018). <https://doi.org/10.1016/j.molp.2017.10.008>

POLTURAK, G., & AHARONI, A.. Advances and future directions in betalain metabolic engineering. **New Phytologist**, 224(4), 1472–1478, 2019. <https://doi.org/10.1111/nph.15973>

QIN, Y., LIU, Y., ZHANG, X., & LIU, J. Development of active and intelligent packaging by incorporating betalains from red pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) peel into starch/polyvinyl alcohol films. **Food Hydrocolloids**, 100, 105410, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105410>

Rahimi, P. et al. Effects of betalains on atherogenic risk factors in patients with atherosclerotic cardiovascular disease. **Food and Function**, 10(12), 8286–8297, 2019. <https://doi.org/10.1039/c9fo02020a>

RAMOS, J. A. et al. Stability of bioactive compounds in minimally processed beet according to the cooking methods. **Food Science and Technology**, 38(4), 643–646, 2017. doi:10.1590/1678-457x.11817

SABER, A., ABEDIMANESH, N., SOMI, M., KHOSROUSHAHI, A. Anticancer Effects of Beetroot Hydro-Alcoholic Extract and Betanin on Human Colorectal Cancer Cell Lines. **Research Square**, 2020. <https://doi.org/10.21203/RS.3.RS-90862/V1>

SAWICKI, T., BĄCZEK, N., & WICZKOWSKI, W. Betalain profile, content and antioxidant capacity of red beetroot dependent on the genotype and root part. **Journal of Functional Foods**, 27, 249–261, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.09.004>

SAWICKI, T., & WICZKOWSKI, W. The effects of boiling and fermentation on betalain profiles and antioxidant capacities of red beetroot products. **Food Chemistry**, 259, 292–303, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.03.143>

SHARMA, S., KATOCH, V., KUMAR, S., & CHATTERJEE, S. Functional relationship of vegetable colors and bioactive compounds: Implications in human health. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 92, p. 108615, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2021.108615>

SHUNAN, D., YU, M., GUAN, H., & ZHOU, Y. Neuroprotective effect of Betalain against A β 1-3-induced Alzheimer’s disease in Sprague Dawley Rats via putative modulation of oxidative stress and nuclear factor kappa B (NF- κ B) signaling pathway. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, 137, 111369, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111369>

- SONAR, C. R., RASCO, B., TANG, J., & SABLANI, S. S. Natural color pigments: oxidative stability and degradation kinetics during storage in thermally pasteurized vegetable purees. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 99(13), 5934–5945, 2019. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9868>
- TAIRA, J., TSUCHIDA, E., KATOH, M. C., UEHARA, M., & OGI, T. Antioxidant capacity of betacyanins as radical scavengers for peroxy radical and nitric oxide. **Food Chemistry**, 166, 531–536, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.05.102>
- TANAKA, Y., SASAKI, N., & OHMIYA, A. Biosynthesis of plant pigments: Anthocyanins, betalains and carotenoids. **Plant Journal**, v. 54, p. 733–749, 2008. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2008.03447.x>
- TANUMIHARDJO, S. A.; SURI, D.; SIMON, P.; GOLDMAN, I. L. Vegetables of temperate climates: Carrot, parsnip and beetroot. **Encyclopedia of Food and Health**, v. 2, p. 387-392, 2016. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00714-5>
- TIVELLI, S.W. ET AL. Beterraba: do plantio à comercialização. Boletim técnico ICA, v. 210, p. 45, 2011.
- TKACZYK, A., MITROWSKA, K., & POSYNIK, A. Synthetic organic dyes as contaminants of the aquatic environment and their implications for ecosystems: A review. **Science of the Total Environment**, v. 717, p. 137222, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137222>
- TOTH, S. et al. The effect of Betanin parenteral pretreatment on Jejunal and pulmonary tissue histological architecture and inflammatory response after Jejunal ischemia-reperfusion injury. *Experimental and Molecular Pathology*, 104292, 2019. doi:10.1016/j.yexmp.2019.104292
- VEIGA, M., COSTA, E. M., SILVA, S., & PINTADO, M. Impact of plant extracts upon human health: A review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 60,p. 873–886, 2020. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1540969>
- VOLINO-SOUZA, M., OLIVEIRA, G. V. DE, CONTE-JUNIOR, C. A., & ALVARES, T. S. Covid-19 Quarantine: Impact of Lifestyle Behaviors Changes on Endothelial Function and Possible Protective Effect of Beetroot Juice. **Frontiers in Nutrition**, v. 7, 2020. <https://doi.org/10.3389/fnut.2020.582210>
- WANG, T. et al. Stability of bioactive compounds and in vitro gastrointestinal digestion of red beetroot jam: Effect of processing and storage. **Food Bioscience**, 38, 100788, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100788>
- WHITE, J. et al. Association of lipid fractions with risks for coronary artery disease and diabetes. **JAMA Cardiology**, 1(6), 692–699, 2016. <https://doi.org/10.1001/jamacardio.2016.1884>
- WOOTTON-BEARD, P. C., & RYAN, L. A beetroot juice shot is a significant and convenient source of bioaccessible antioxidants. **Journal of Functional Foods**, 3(4), 329–334, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2011.05.007>

ZOHARY, D., & HOPF, M.. Domestication of plants in the Old World: the origin and spread of cultivated plants in West Asia, Europe and the Nile Valley. **Oxford**, 176, ed.3, 2012.
<https://10.1093/acprof:osobl/9780199549061.001.0001>.

MANUSCRITO 3**Co-encapsulação de *Lactobacillus plantarum* e compostos bioativos extraídos do caule de beterraba vermelha (*Beta vulgaris L.*) por *spray dryer***

Este trabalho está em fase de revisão para ser submetido à revista Food Research International (qualis A1)

Co-encapsulação de *Lactobacillus plantarum* e compostos bioativos extraídos do caule da beterraba vermelha (*Beta vulgaris L.*) por *spray dryer*

Resumo

As bactérias probióticas e os compostos bioativos obtidos de origem vegetal, vem ganhando destaque pois são dois promissores ingredientes com potencial de elevar a saudabilidade dos alimentos ditos como funcionais, já que há uma recorrente busca pelos mesmos na atualidade. No entanto ambos compostos mencionados são sensíveis a fatores intrínsecos e extrínsecos tanto no processamento como também no acondicionamento do produto acabado. Nesse sentido, o presente estudo tem como objetivo co-encapsular bactérias probióticas e compostos extraídos do caule de beterraba vermelha, a fim de avaliar a interação, viabilidade e resistência de ambos compostos juntos. Ao estudar a co-encapsulação de *L.plantarum* e betalaínas extraídas do caules de beterraba, foi observada uma sutil influência na viabilidade de probióticos na concentração mais alta de extrato (100%), em contrapartida, a concentração de 50% foi a que melhor viabiliza a sobrevivência de *L.plantarum* em acondicionamento de 25, 8 e -18 °C. A viabilidade das betalaínas e do probiótico foi mantida no armazenamento em temperaturas de 8 e -18 °C, pois a viabilidade e estabilidade dos encapsulados durante 120 dias foi alcançada com êxito. Assim, a formulação polifuncional desenvolvida neste estudo mostrou-se promissora, pois amplia as possibilidades de aplicação e desenvolvimento de novos alimentos.

Palavras-chave: probiótico, betalaínas, bioativos, resíduo, caule de beterraba, *spray dryer*.

1 Introdução

A crescente procura por alimentos de qualidade que proporcionem não apenas nutrição, mas também saúde, vem sendo destacada. Isso reflete diretamente na crescente e

progressiva evolução nas pesquisas em ciência dos alimentos e nutrição (Manzoor et al., 2021). Uma alimentação saudável e balanceada vem sendo associada à aquisição de novos produtos, que apresentam em sua composição ingredientes além dos já encontrados. Os estudos nesse esfera, abrange alimentos naturais e industrializados, que em sua maioria almejam a inclusão de novas formulações contendo grupo de compostos bioativos de interesse (Hansen & Thomsem, 2018; Vizireanu & Hruschka, 2018), onde já se detém o conhecimento dos efeitos positivos na saúde, e com isso, desvendam a quantidade e proporções assertivas para a inclusão desses novos achados aos produtos desenvolvidos (Sharifi-Rad et al., 2020).

As principais classes de bioativos que vem em recorrente tendência são a dos probióticos e pigmentos naturais ricos em compostos bioativos (Cunningham et al., 2021). É recorrente o forte apelo na narrativa da relação intestino-cérebro, onde acredita-se que uma microbiota equilibrada promove benéficos não apenas ao intestino (Snigdha et al., 2021). Os probióticos são definidos pelos órgãos regulamentadores como, microrganismos vivos que quando ingeridos em quantidades adequadas e com frequência, tem o potencial de se aderir ao epitélio intestinal com o objetivo de promover saúde e bem estar, além de outros benefícios secundários vinculados (FAO / OMS, 2002; Koirala & Anal, 2021). Já se sabe que os probióticos produzem compostos bioterapêutico que exercem vários efeitos à saúde, como por exemplo a regulação da flora intestinal, ação antimicrobiana frente a bactérias patogênicas, regulação do pH intestinal, além de restaurarem a microbiota após casos de diarreias (Zendeboodi et al., 2020). No entanto, os estudos de moléculas biologicamente ativas presentes principalmente em plantas é contemporâneo, e vem sendo destaque no desenvolvimento de novos produtos voltados à saudabilidade e nutrição (Abuga et al., 2021; Pires et al., 2021). Uma forte representante atual dessa classe de moléculas bioativas, são as betalainas, que destacam-se frente a outros compostos, pois são relativamente mais estáveis a alterações de pH, possuem uma singular solubilidade e alta atividade antioxidante que

promove benefícios à saúde já relatada (Spiegel et al., 2021). Além do mais, as betalaínas apresentam uma solubilidade singular, onde facilita sua extração por tecnologias verdes utilizando apenas água (Otalora et al., 2020). As betalaínas são abundantemente encontradas na raiz beterraba, porém um desafio é a reutilização das partes menos nobres desse tubérculo, como os caules e folhas que geralmente são rejeitados, porém são matrizes tão valiosas nutricionalmente e biologicamente quanto a raiz beterraba (Rodriguez-Amaya, 2019; Coman et al., 2020; Sadowska-Bartosz & Bartosz, 2021a).

Ambos compostos destacados, sofrem com fatores intrínsecos (enzimas) e extrínsecos (pH, oxigênio, luz, temperatura) quanto adicionados sem alguma proteção no processamento de alimentos, além disso, são afetados negativamente durante a digestão humana, reduzindo ou perdendo totalmente sua eficiência, portanto proteger a eficiência de compostos de interesse é um desafio importante que precisa ser enfrentado durante o desenvolvimento de novos produtos alimentícios funcionais (Nualkaekul & Charalampopoulos, 2011a; Sawicki et al., 2016; Tossi et al., 2021; Chuah & Mao, 2020). Nesse sentido, já existem novas tecnologias voltadas para reduzir essa problemática (Raddatz & Menezes, 2021). Dentre elas, a microencapsulação por *spray dryer* já é conhecida e apresenta uma solução promissora na área de alimentos, onde proporciona um revestimento de partículas de interesse sólidas ou líquidas no seu interior, tem como premissa a entrega direcionada dos compostos revestidos na exata fração do intestino, onde ocorrerá a ação dos mesmos, resistindo então, as alterações de pH durante digestão (Kuley et al., 2021; Sharifi et al., 2021a). A principal vantagem da atomização por *spray dryer* está no fornecimento de microcápsulas em pó, onde irá facilitar processos de entrega e ampliação da estabilidade dos compostos devida à reduzida atividade de água contida nas partículas (Sabarez, 2021). Portanto, a microencapsulação possibilita a ampla exploração de diferentes compostos no seu interior. Preservar a eficácia de bactérias probióticas e compostos bioativos como as betalaínas, é um desafio recorrente, que precisa ser

enfrentado durante o desenvolvimento de novos produtos alimentícios funcionais (Nualkaekul & Charalampopoulos, 2011; Janiszewska, 2014).

Logo, o presente estudo teve como objetivo co-encapsular pela técnica de secagem por atomização em *spray dryer* de bactérias probióticas (*L. plantarum*) com o extrato aquoso de betalaínas obtido do caule de beterraba vermelha, a fim de investigar a influência, viabilidade, estabilidade e eficiência de encapsulação de ambos os compostos.

2 Materiais e Métodos

2.1 Materiais utilizados

As beterrabas *Beta vulgaris L.* (cultivar Boro) foram adquiridas em uma propriedade rural localizada em Júlio de Castilho, RS – Brasil, e armazenadas a 8°C até o momento da extração. Para o desenvolvimento das microcápsulas foram utilizadas maltodextrina (Ingredion, São Paulo, Brasil), goma arábica (CNI, São Paulo, Brasil), trealose (Hayashibara, São Paulo, Brasil), Twen 80 (Synth, São Paulo, Brasil), glicerol (Enerquímica, Paraná, Brasil) e cultura probiótica de *Lactobacillus Plantarum* (Coana, Santa Catarina, Brasil).

2.2 Preparo do inóculo

A cepa liofilizada de *L. plantarum* foi ativada previamente ao processo de microencapsulação, adicionando 1 g da cepa em 100 mL de caldo MRS (Merck, Alemanha) e incubado por 16 horas a 37°C. Na sequência essa solução foi centrifugada à 2470 x g por 15 minutos a 4°C, e o sobrenadante foi lavado com solução de NaCl (0,85%) e coletado para posterior adição ao processo. A concentração inicial dessa cultura probiótica ativada foi de aproximadamente ~ 10 log UFC / mL (Etchepare *et al.*, 2016).

2.3 Preparo do extrato de betalaínas

Os maços de beterrabas foram devidamente sanitizados e os caules foram separados, posteriormente foram congelados por 24h a -18°C , após, liofilizados por 24h, e então os caules secos foram triturados em moinho de facas. O extrato foi obtido seguindo a metodologia de OMAE *et al.* (2017) com algumas alterações descritas na sequência: o extrato foi preparado com água destilada á 60°C na proporção de 1:40 (m/v), seguida de agitação em vortex por 10 segundos e centrifugada à $4320 \times g$, 10°C por 10 min, o sobrenadante foi coletado e filtrado sob vácuo em papel filtro qualitativo (80 g/m^2). Após a extração das betalaínas, o extrato foi separado para as análises sequenciais e microencapsulação.

2.4 Produção das microcápsulas por spray dryer

A produção das microcápsulas foi realizada seguindo a metodologia proposta anteriormente por Nunes *et al.* (2017a), com modificações listadas na Tabela 1.

Tabela 1 - Composição dos tratamentos com e sem microencapsulação.

Reagentes	Tratamentos				
	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅
Goma Arábica	-	-	4 g	4 g	4 g
Thealose	-	-	4 g	4 g	4 g
Maltodextrina	-	-	2 g	2 g	2 g
Twen 80		-	0,1 mL	0,1 mL	0,1 m
Glicerol	-	-	1,90 mL	1,90 mL	1,90 mL
Cultura probiótica	1 g		1 g	1 g	1 g
Extrato de betalaínas	-	100 mL	-	100 mL	50 mL
Água	-	-	100 mL	-	50 mL
Concentração final de sólidos (m / v):				~ 12%	

T₁= cultura celular na forma livre de *L. plantarum*, T₂= extrato do caule de beterraba na forma livre, T₃= microcápsulas com *L. plantarum* sem extrato, T₄= microcápsulas com *L. plantarum* com 100% de extrato do caule de beterraba e T₅= microcápsulas com *L. plantarum* com 50% de extrato do caule de beterraba.

O processo de microencapsulação foi realizado em *spray dryer* laboratorial (MSD 1.0 Labmaq, São Paulo, Brasil) com temperatura de operação de entrada de 120°C e temperatura de saída de 85°C ± 5°C. As diferentes soluções de alimentação, mantidas sob agitação, foram introduzidas no sistema de secagem por meio de uma bomba peristáltica com taxa de alimentação de 0,47 L / h, vazão de ar de secagem de 40 L / min, pressão de ar de 0,6 MPa e um bico atomizador de 1,5 mm de diâmetro. As micropartículas foram coletadas e transferidas para frascos estéreis e armazenadas.

2.5 Morfologia e tamanho médio das microcápsulas

A morfologia das microcápsulas secas foi observada em microscópio eletrônico de varredura (MEV). A distribuição do tamanho médio de partícula foi medida usando o equipamento de difração a laser Mastersizer 3000 (Malvern, Alemanha), utilizando água como meio de dispersão.

2.6 Eficiência de Encapsulação (EE%)

A eficiência de encapsulação (EE%) foi realizada para probióticos e o composto bioativo (betalaínas) seguindo a metodologia sugerida por Petraitytė e Sipailienė (2019), onde foi desenvolvida uma equação (Equação 1) que representa a taxa de sobrevivência de microrganismos e a quantidade de betalaínas (EE%) durante o processo de microencapsulação.

Equação 1 - $EE\% = (N / N_0) \times 100$

Onde N é o número de células viáveis (log UFC g⁻¹) ou betalaínas (mg / L) libertadas a partir

das microcápsulas, e N_0 é o número de células viáveis ($\log \text{UFC g}^{-1}$) ou betalaínas (mg / L) no concentrado pré-encapsulação.

2.7 Avaliação da viabilidade de *L. plantarum* e betalaínas ao armazenamento

A fim de determinar a viabilidade de *L. plantarum* e a estabilidade do extrato de betalaínas tanto livres como microencapsulados, foram realizadas análises a cada 15 dias, com as amostras armazenadas em frascos estéreis nas seguintes condições: $25 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$, $8 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ e $-18 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$, por um período de 120 dias, segundo (Oliveira *et al.*, 2007).

2.8 Viabilidade probiótica de *Lactobacillus plantarum*

A liberação das bactérias a partir do desencapsulamento das microcápsulas foi realizada de acordo com o método proposto por Sheu, Marshall e Heymann (1993) com modificações. O procedimento de desencapsulação consistiu em pesar 0,1 g de amostra, adicionar 9,9 mL de solução tampão fosfato estéril (pH 7,5) e homogeneizar por 10 min, a partir desta primeira diluição serão realizadas as diluições decimais seriadas em água peptonada 0,1%.

Para a contagem de *L. plantarum* serão transferidas alíquotas de 1,0 ml das diluições escolhidas em triplicatas para as placas de petri. Sobre cada amostra será adicionado o meio de cultura MRS Agar com sobrecamada. A confirmação das colônias típicas será realizada em um contador de colônias eletrônico (LOGEN - LS6000) após a incubação por 72 horas sob anaerobiose a $37 \text{ }^\circ\text{C}$.

2.9 Quantificação fotométrica aproximada de betalaínas totais livres e microencapsuladas

A concentração de betalaínas foi determinada em função da concentração de betanina (mg / L de extrato). Para a quantificação de betalaínas dentro das microcápsulas, seguiu a

desencapsulação descrito no item 2.8, posteriormente centrifugou a amostra em 12000 x g por 5 min a 10 ± 1 °C, separando os resíduos da microcápsula, do extrato, obtendo uma amostra límpida para análise fotométrica. A quantificação das betalainas totais seguiu a metodologia sugerida por Herbach; Stintzing; Carle (2004) onde a amostra (livre e encapsulada/rompida) foi diluída com o solvente extrator (água) e quantificada em espectrofotômetro UV/ VIS (Agilent 8453 UV-visible spectrophotometer) onde quantificou-se a partir da equação proposta pelos autores: $\text{Betalainas totais [mg / L]} = [(A \times DF \times MW \times 100) / E \times L]$, onde A é a absorção máxima a 536 nm, corrigida por absorção a 600 nm, MW representa a massa molar de betanina (550 g mol^{-1}), DF é o fator de diluição, E é a absorção molar ($6000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) e L é o comprimento do caminho óptico (cm).

2.10 Resistência ao tratamento térmico

A resistência ao tratamento térmico foi avaliada como proposto por Zhang, Lin e Zhong (2015) com algumas modificações. Para isso, 0,1 g de microcápsulas e 1 mL de cultura livre foram transferidos para tubos de ensaio contendo 9 mL de água peptonada (0,1%) estéril. O conteúdo foi então submetido a diferentes condições térmicas, sendo 72 ± 1 °C por 15 seg e 63 ± 1 °C por 30 min, simulando a pasteurização rápida e lenta respectivamente. Após processo de pasteurização, os tubos foram ligeiramente resfriados por imersão em gelo por 15 minutos. Por fim, as alíquotas foram coletadas e a viabilidade celular foi determinada seguindo os itens 2.8.

2.11 Avaliação da sobrevivência de *L. plantarum* livre e microencapsulado em condições gastrointestinais simuladas

Para avaliar a sobrevivência dos probióticos frente ao sistema gastrointestinal, foi realizada uma simulação *in vitro* dessas condições seguindo o método proposto por

(MADUREIRA *et al.*, 2011) com modificações. A viabilidade das bactérias foi avaliada (esôfago / estômago, duodeno e íleo). Durante o procedimento, as alíquotas serão retiradas após 0 min, 90 min (esofágica / estômago), 110 min (duodeno), e 200 min (íleo), analisando a sobrevivência do *L. plantarum* livre e microencapsulados através da enumeração em ágar MRS conforme item 2.8.

Na etapa onde simula a fase esôfago/estômago, foi pesado 0,1g de microcápsulas seguida de homogeneização com 25 mg mL⁻¹ de pepsina (Sigma, Alemanha) em HCl 0,1M a uma concentração de 0,05 mL por 90 minutos, e o pH ajustado para 2,0 com HCl 1M. Na etapa onde foi simulado o duodeno, uma solução contendo 2g de pancreatina (Sigma) e 12 g L⁻¹ de sais biliares bovinos (Sigma) em NaHCO₃ 0,1 M, em pH 5,0 foi usada em concentração de 0,25 mL. Concluindo, na etapa onde simulou-se o íleo, o pH foi ajustado para 6.5 usando 0,1 M de NaHCO₃. As soluções foram preparadas no momento da análise, sendo esterilizadas por filtração em membrana (poro 0,20µm) (Millipore, Billerica, MA, EUA). A análise foi realizada em incubadora refrigerada com agitação (TE-421, Tecnal, Piracicaba, SP, Brasil) a 37°C simulando a temperatura corporal e condições de agitação para simular os movimentos peristálticos do trato digestivo.

2.12 Análise estatística

As análises foram feitas em triplicata e as diferenças significativas entre as médias para os valores obtidos foram submetidas a análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey com o auxílio do programa STATISTICA® versão 10.0, em nível de 5% de significância.

3. Resultados e Discussões

3.1 Caracterização de microcápsulas obtidas por *Spray dryer*

A caracterização das microcápsulas obtidas por *spray dryer* foram descritas na tabela 3, onde se avaliou a viabilidade, tamanho médio de partículas e a EE dos probióticos e de betalaínas. Observa-se que, provavelmente a quantidade de extrato substituído nas formulações e a concentração de sólidos utilizada de 12% interferiu de forma significativa no tamanho das microcápsulas e na EE de ambos tratamentos (Antigo *et al.*, 2020), além disso, verifica-se um possível efeito sutil da ação antimicrobiana (Hu *et al.*, 2020, Lages *et al.*, 2021) atribuída às betalaínas, tratando-se de resultados atípicos aos achados por Machado Vasconcelos *et al.*, (2021) e Jouki *et al.*, (2021). No entanto um recente estudo realizado por Pupa *et al.*, (2021a) revela resultados semelhantes aos descritos na tabela 3, onde as encapsuladas *L. plantarum* por *spray dryer* atingiu ~ 75% de eficiência de encapsulação e tamanho médio de partículas $\pm 12,88 \mu\text{m}$.

Tabela 2 - Viabilidade, tamanho médio das micropartículas e eficiência de encapsulação

Tratamentos	Viabilidade pós-encapsulação		Tamanho médio de partícula (μm)	EE % Probiótico	EE % Extrato
	Probiótico UFC / g	Extrato mg / L			
T1 (inicial)	*10,11 \pm 0,03 ^a	-	-	-	-
T2	-	92,61 \pm 0,00 ^a	-	-	-
T3	7,22 \pm 0,05 ^b	-	5,76 \pm 1,08 ^c	71,43 \pm 0,65 ^a	-
T4	7,24 \pm 0,18 ^b	64,27 \pm 0,02 ^b	27,30 \pm 0,00 ^a	71,56 \pm 1,68 ^a	69,39 \pm 0,02 ^a
T5	7,44 \pm 0,05 ^b	57,52 \pm 0,07 ^c	10,20 \pm 0,00 ^b	73,57 \pm 0,67 ^a	62,11 \pm 0,08 ^b

Médias seguidas de diferentes letras minúsculas diferem estatisticamente na coluna (teste de Tukey, $p < 0,05$). T₁= cultura celular na forma livre de *L. plantarum*, T₂= extrato do caule de beterraba na forma livre, T₃= microcápsulas com *L. plantarum* sem extrato, T₄= microcápsulas com *L. plantarum* com 100% de extrato do caule de beterraba e T₅= microcápsulas com *L. plantarum* com 50% de extrato do caule de beterraba.

A morfologia das microcápsulas foi elucidada por imagens do MEV (Figura 1) com magnificação variando de 500 a 8000 x. Em geral, para A, B, E e F apresentou estruturas

arredondadas com rugosidades aparentes e aglomeradas, e para C e D microcápsulas desuniformes, sem estrutura definida, além de aglomeração e superfícies irregulares (Sharifi *et al.*, 2021b). No entanto, nenhuma rachadura foi observada nas superfícies de ambos tratamentos, sendo um aspecto positivo, pois inviabiliza a entrada de oxigênio que pode degradar ambos compostos (Ortiz-Basurto *et al.*, 2017).

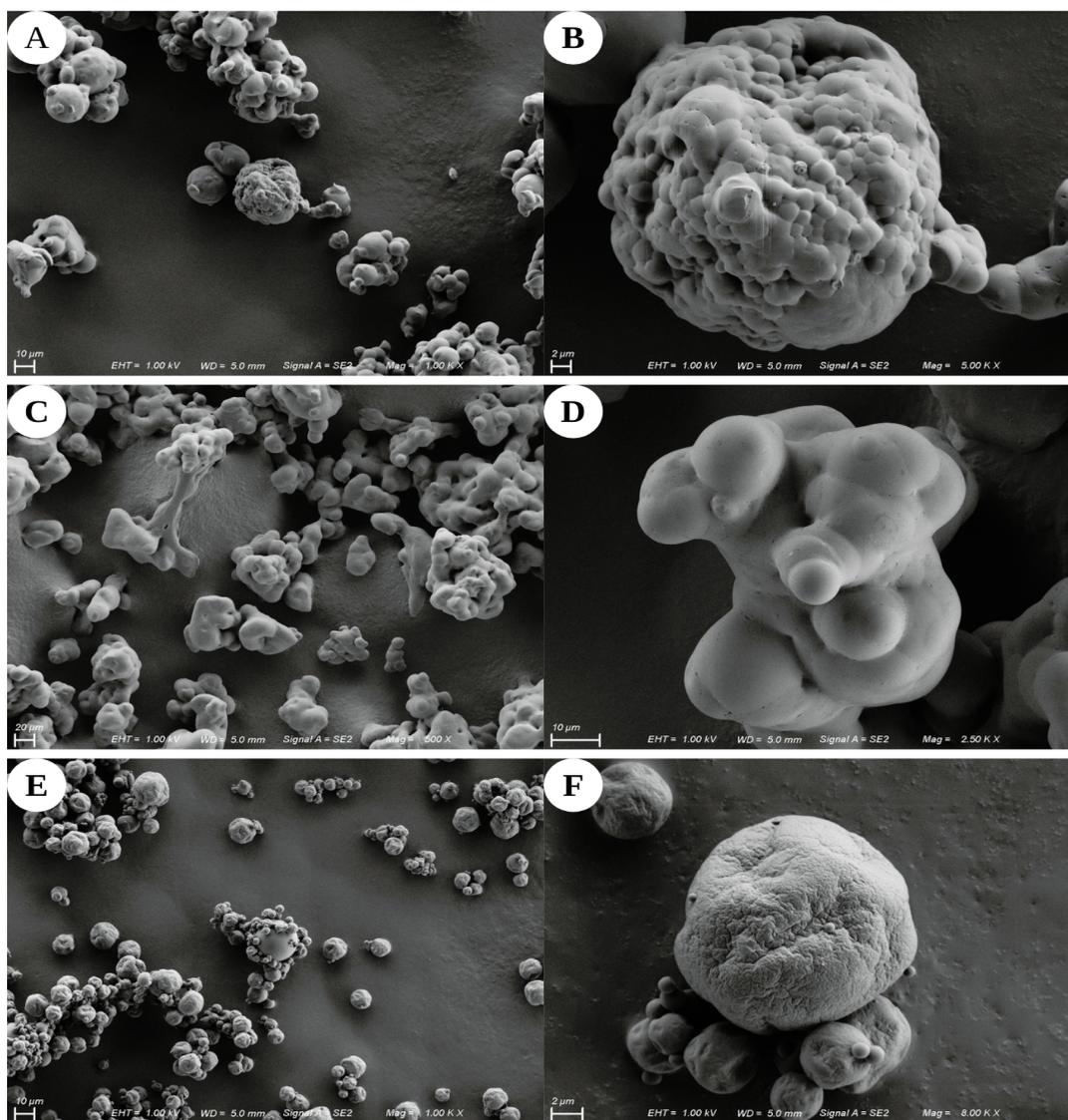


Figura 1 - Microscopia óptica de microcápsulas probióticas com e sem extrato de betalaínas: T₃ (A e B): solução padrão contendo *L. plantarum* sem extrato de betalaínas; T₄ (C e D): solução contendo *L. plantarum* com 100% extrato de betalaínas; T₅ (E e F): solução contendo *L. plantarum* com 50% extrato de betalaínas.

3.2 Avaliação da estabilidade de *L. plantarum* e betalaínas livre e microencapsulados ao armazenamento

A viabilidade do probiótico microencapsulado no T₄ na condição de armazenamento em 25 °C representada na Figura 1 (A) foi superior aos tratamentos T₃ e T₅, sendo inferior apenas ao controle de células livres (T₁) que se manteve em alta em ambas as condições de armazenamento testadas. Presume-se que a quantidade de 50% de extrato adicionada na formulação possa ter protegido o probiótico ao processo de exposição ao calor durante a passagem no *spray dryer*, além de ser uma quantidade propícia onde os efeitos antimicrobianos das betalaínas tenha baixa atividade frente os probióticos. Já nas condições de armazenamentos em 8 °C e -18 °C, os tratamentos T₁, T₃, T₄ e T₅ ao longo dos 120 dias, se mantiveram semelhantes, mostrando-se viáveis com aproximadamente ~ 6 Log UFC g⁻¹ isso representa um resultado positivo frente ao limite mínimo exigidos para uma atuação positiva no intestino humano (Yoha *et al.*, 2021).

O presente achado, se revelou ser superior aos relatos da literatura, sendo que as condições de armazenamentos simuladas neste trabalho já são reproduzidas e são referências promissoras para viabilizar a sobrevivência de probióticos como relatado por (Coghetto *et al.*, 2016) onde encapsulou *L. plantarum* por eletropulverização com armazenamento refrigerado à 4 °C por 21 dias, e (Mahmoud *et al.*, 2020) que encapsulou *L. plantarum* por extrusão e armazenamento sob refrigeração à 6 °C e congelamento de -18 °C por um a três meses. No entanto, os resultados descobertos pelos autores são semelhantes ou inferiores aos achados neste estudo para viabilidade do *L. plantarum* armazenados por 120 dias em três condições simuladas. No entanto, ambos autores entram em concordância, declarando que a temperatura de refrigeração e de congelante é a melhor condição para manter a sobrevivência de *L. plantarum*, corroborando assim com os achados. Da mesma forma, Pupa *et al.*, (2021b) relatam que a encapsulação por *spray dryer* de bactérias probióticas se mostram mais eficiente

comparadas a técnicas como extrusão e emulsificação, identificando nas amostras secas menores perda de viabilidade durante o armazenamento, assim, atribuiu esse resultado positivo à baixa atividade de água das microcápsulas.

Do mesmo modo que se alcançou a proteção dos probióticos nas circunstâncias estudadas, o extrato do caule de beterraba também foi protegido e permaneceu-se estável em ambos tratamentos que passaram pela encapsulação (T₄ e T₅), como é possível observar na Figura 2 em D, E e F, onde foi expressos apenas os resultados dos tratamentos que continham na sua composição o pigmento avermelhado. No decorrer do tempo, o T₅ foi o tratamento que menos variou há 25 °C para o extrato, porém o T₄ como reteve uma maior concentração de betalaínas, se manteve com altas concentrações, assim como o T₅ com 50% de extrato, se manteve com quantidades significativas de betalaínas totais estimada em ambas condições estudadas. A microencapsulação de betalaínas de diferentes fontes e técnicas vem sendo estudada, como relatado por Pagano *et al.*, (2018) onde estudou a emulsão do tipo A/O/A, verificando assim a eficiência na digestão intestinal *in vitro*. Paralelamente, Hidalgo *et al.*, (2018) preservaram os compostos bioativos e pigmentados obtidos do bagaço de beterraba por meio da liofilização, aplicando-os com sucesso em biscoitos. Além disso, a nanoencapsulação também foi estudada em 2018 por Amjadi *et al.*, onde desenvolveu nanocarreadores lipossomais com betalaínas que foram aplicados em êxito em balas de goma. Assim, é evidente que a microencapsulação de pigmentos de betalaínas obtido do caule de beterraba se revelou promissora, pois promoveu a proteção e assim irá viabilizar a aplicação do mesmo em sistemas alimentares. Em contrapartida, a rápida perda da estabilidade do extrato contendo pigmentos de betalaínas na forma livre (T₂), armazenados em 25 °C e 8 °C apresentadas na Figura 2 (D e E) foi previsível, pois já é de conhecimento na literatura, que betalaínas são pigmentos instáveis e sensíveis à degradação quando armazenados sem tratamentos prévios (Skalicky *et al.*, 2020, Silva *et al.*, 2020), por esse motivo, a investigação

de estratégias para promover proteção do pigmento vermelho de beterraba, carece de desenvolvimento e avaliação. Em estudos recentes, comprovou-se que a instabilidade de betalaína em sua forma livre é preocupante, tendo como característica uma cinética de degradação de primeira ordem (Laqui-Vilca *et al.*, 2018; Fernando *et al.*, 2021), assim quanto mais concentrado for o composto mais rápida será sua degradação, com isso, se torna inviável a aplicação na forma livre desse pigmento natural em sistemas alimentares (Sravan Kumar *et al.*, 2020).

Embora as temperaturas de armazenamento em 25 °C e 8 °C tenham ocorrido variações significativas para ambos compostos (probiótico e betalaínas), os tratamentos microencapsulados ou não, armazenados sob condição de congelamento (-18 °C) revelaram ter uma elevada eficiência na preservação da viabilidade e estabilidade de ambos os compostos de interesse estudados, corroborando com os achados de Kayın *et al.*, (2019) e Bianchi *et al.*, (2021a).

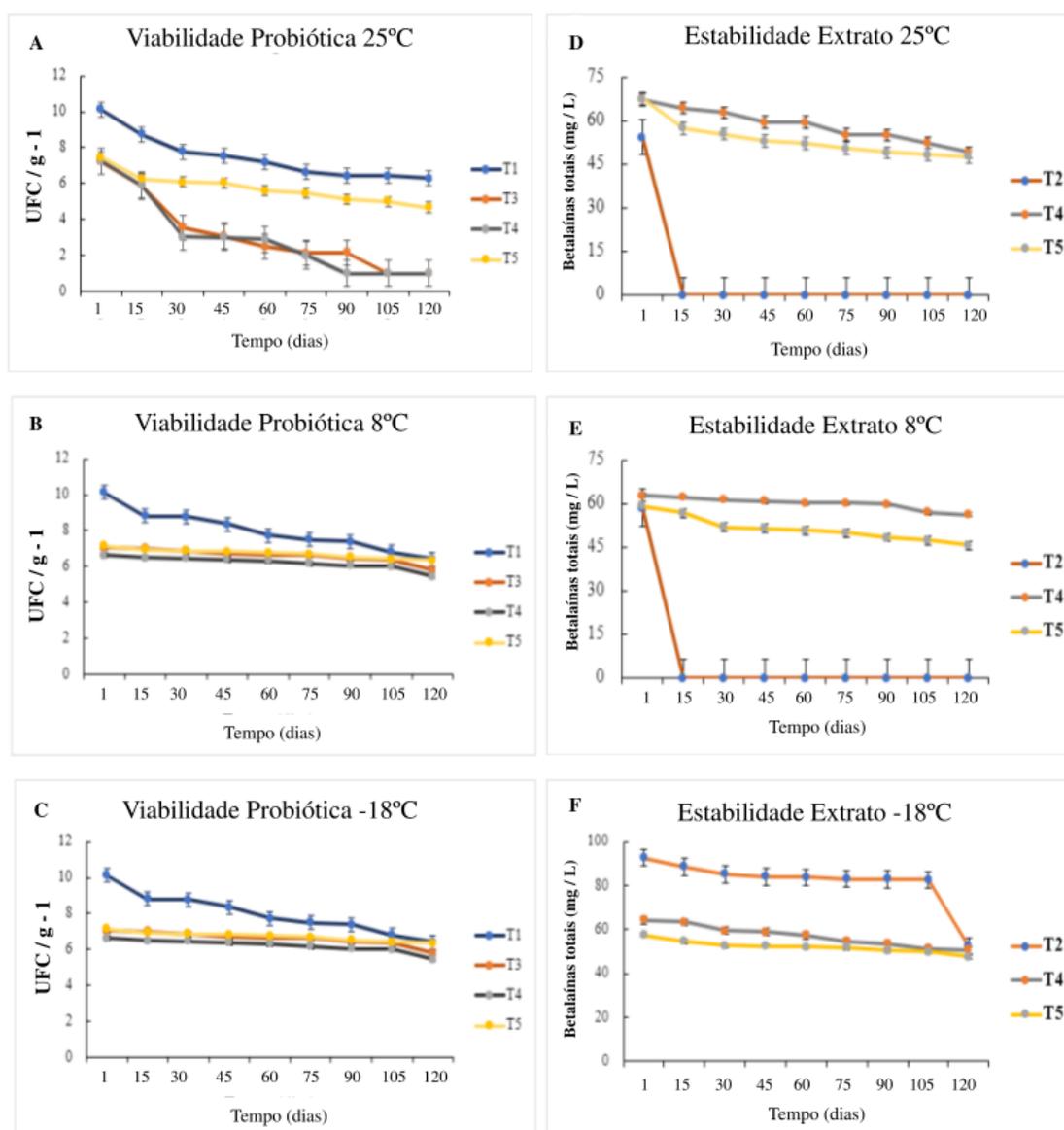


Figura 2 - Viabilidade e estabilidade de *L. plantarum* e betalaínas livre e microencapsulados ao armazenamento. T₁= cultura celular na forma livre de *L. plantarum*, T₂= extrato livre, T₃= microcápsulas com *L. plantarum* sem extrato, T₄= microcápsulas com *L. plantarum* com 100% de extrato do caule de beterraba e T₅= microcápsulas com *L. plantarum* com 50% de extrato do caule de beterraba.

3.4 Avaliação da resistência de *L. plantarum* e betalaínas microencapsulados e livres ao tratamento térmico

A resistência térmica dos compostos microencapsulados foi testada, a fim de verificar a sua aplicação em alimentos que sofrem por processamento prévio como os realizados.

Assim, a resistência ao tratamento térmico simulado de *L. plantarum* na condição livre se mostrou mais eficiente do que os tratamentos encapsulados, indo ao encontro dos achados por Iaconelli *et al.*, (2015) onde relata que a perda durante o processo de secagem por atomização foi de 0 e 1 log. Porém deve-se ressaltar que o T₁ não sofreu com aquecimento prévio como os tratamentos T₃, T₄ e T₅, que passaram por aquecimentos de 120 °C no processo de encapsulação, e posterior tratamento térmico, elevando assim sua vulnerabilidade durante o processo térmico estudado. Porém, dentre os tratamentos microencapsulados, o T₅ foi o que se mostrou mais eficiente na preservação da viabilidade probiótica à 73 °C. Por outro lado, comparado ao T₄, o padrão T₃ inviabilizou com maior proporção os probióticos. Já no aquecimento em 63°C por 30 minutos, revelou ser mais eficiente para T₃ e T₅ do que para T₄. Acredita-se que a alta concentração de extrato presente no T₄ pode ter ocasionado esse resultado inesperado, pois betalaínas apresenta uma atividade antimicrobiana já elucidada que pode estar intervindo na viabilidade do probiótico (Chhikara *et al.*, 2019, Sadowska-Bartosz & Bartosz, 2021b).

Já a estabilidade no tratamento térmico do extrato tanto livre como encapsulado foi mais promissora na simulação de 63 °C para T₂ e T₄, exceto para T₅, que obteve melhor estabilidade à 72 °C possivelmente por ser um processo mais rápido. Resultados semelhantes aos achados foram identificados por Dias *et al.*, (2020), Kaur *et al.*, (2021) e Bianchi *et al.*, (2021b), onde avaliaram a estabilidade no processo de pasteurização de betalaínas em presunto cozido, beterraba pura e sucos (maçã e beterraba) respectivamente. Também, Liu *et al.*, (2018) relata em seus achados que *Lactobacillus rhamnosus* sobrevivem em altas temperaturas no processo de secagem por spray dryer, porém sofrem um declínio considerável quando expostos ao tratamento térmico. Outro fator relevante acusado pelo autor, está na baixa proteção fornecida pela trealose, que até então é considerada um bom termoprotetor para a microencapsulação de probióticos (Nunes *et al.* (2017b), não sendo na sua totalidade,

eficiente na proteção *L. plantarum*.

Presume-se que os resultados obtidos para este teste estão diretamente relacionados à concentração do extrato dentro da microcápsula, também, observa-se que o processo de microencapsulação por *spray dryer* em concentração de ~ 13% de sólidos, não foi capaz de proteger por completo os probióticos e em partes as betalainas. Mesmo assim, o tratamento T₅ revelou superioridade na proteção de ambos de forma geral.

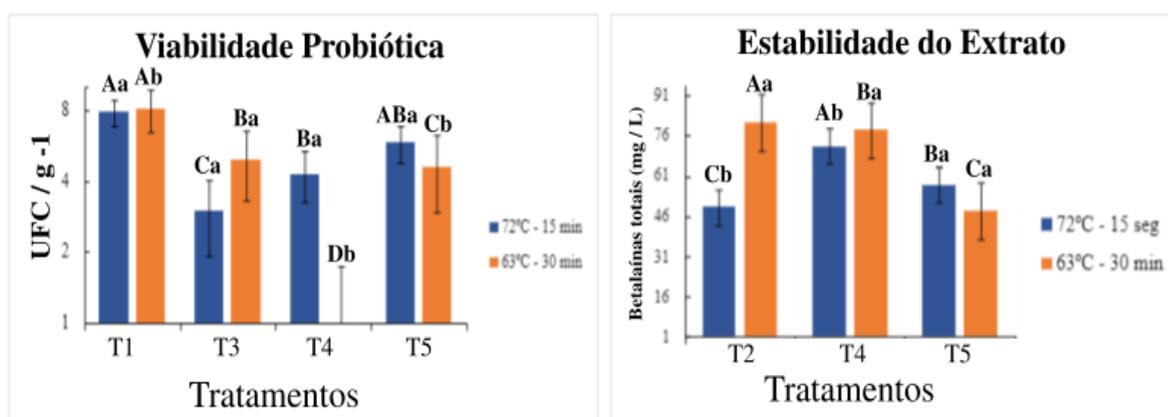


Figura 3. Viabilidade de *L. plantarum* e betalainas microencapsulados e livres ao tratamento térmico, onde, a diferença estatisticamente (teste de Tukey, $p < 0,05$) entre os tratamentos é representada pelas diferentes letras maiúsculas e letras minúsculas diferentes representam a diferença entre as temperaturas simuladas. T₁= cultura celular na forma livre de *L. plantarum*, T₃= microcápsulas com *L. plantarum* sem extrato, T₄= microcápsulas com *L. plantarum* com 100% de extrato do caule de beterraba e T₅= microcápsulas com *L. plantarum* com 50% de extrato do caule de beterraba.

3.5 Avaliação da resistência de *L. plantarum* microencapsulados e livres em condições gastrointestinais simuladas

O resultado da contagem de células viáveis de *L. plantarum* livres e nos diferentes tratamentos microencapsulados com e sem extrato relacionado às condições simuladas do sistema digestivo está descrito na Figura 4.

Ao iniciar a simulação, o tratamento T₁ apresentou contagem abaixo de 4 log UFC g

-1, em contrapartida, todos os microencapsulados T₃, T₄ e T₅ não apresentaram contagem na etapa simulada do estômago, que chegou ao pH 2 após 90 minutos. Esse resultado representa uma boa capacidade da estrutura da microcápsula a resistir a passagem em ambientes com baixo pH como do estômago. Teo *et al.*, 2021 e Misra *et al.*, 2021 aponta que matérias de parede como a goma arábica, trealose e maltodextrina são ideais para o desenvolvimento de microcápsulas produzidas por *spray dryer*, pois exercem uma termoproteção aos compostos de interesse, um bom rendimento e eficiência de encapsulação.

Após os 90 minutos de permanência na simulação do estômago, iniciou a fase da passagem pelo duodeno em pH 5 por 20 minutos, onde o T₁ manifestou uma contagem de 4,4 log UFC g⁻¹. Ainda nesta fase, os tratamentos T₃, T₄ e T₅ apresentaram característica de desencapsulação parcial, sendo retratadas contagens abaixo de 4 log UFC g⁻¹. Por fim, na fase do íleo foi reproduzida em pH 6,5, onde a célula livre sinalizou uma ligeira diminuição logarítmica (3,58 ± 0,06) em relação os tratamentos encapsulados T₃ (3,67 ± 0,11), T₄ (3,81 ± 0,03) e T₅ (3,71 ± 0,08).

Paula *et al.*, (2019) descreve uma redução da viabilidade de 80,4% e 25,0% para o probiótico microencapsulado e livre respectivamente após simulação *in vitro* das condições gastrointestinais. Porém, acredita-se que, dependendo do método aplicado, condições de encapsulamento, cepas probióticas utilizadas, composição e concentração do material da parede, resultados diferentes foram obtidos por Homayouni-Rad *et al.*, (2021). Em contrapartida, Emser *et al.*, (2017), constatou uma ligeira superioridade da *L. plantarum* quando expostos a uma simulação rápida da passagem pelo sistema digestivo. Apesar da quantidade média de 3,73 log UFC g⁻¹ dos tratamentos encapsulados entregues no final do sistema digestivo (íleo), acredita-se que houve uma liberação controlada dos probióticos microencapsulados durante a simulação, demonstrando assim, um resultado relativamente positivo na proteção dos probióticos. No entanto, é relevante a investigação futura da

viabilidade de ambos compostos em sistemas digestivos *in vivo* (Westfall *et al.*, 2021)

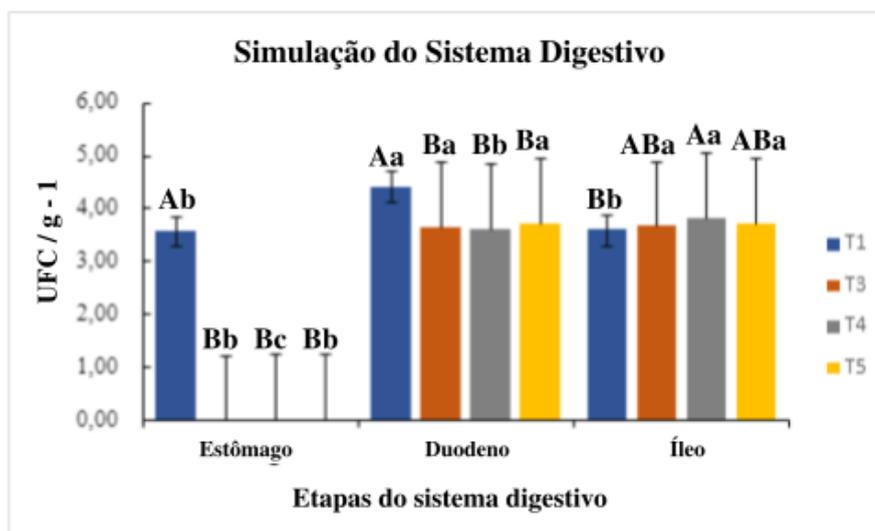


Figura 4. Viabilidade de *L. plantarum* microencapsulados e livres na simulação do sistema digestivo, onde, a diferença estatisticamente (teste de Tukey, $p < 0,05$) entre os tratamentos é representada por diferentes letras maiúsculas e minúsculas diferentes representa a diferença entre as etapas da simulação gástrica. T₁= cultura celular na forma livre de *L. plantarum*, T₃= microcápsulas com *L. plantarum* sem extrato, T₄= microcápsulas com *L. plantarum* com 100% de extrato do caule de beterraba e T₅= microcápsulas com *L. plantarum* com 50% de extrato do caule de beterraba.

4 Conclusão

A co-encapsulação de *L. plantarum* e betalaínas extraídas do caule de beterraba vermelha foi alcançada com êxito. Verificou-se que os parâmetros de caracterização como eficiência de encapsulação, morfologia e diâmetro médio das microcápsulas obtidos, corroboraram com os demais estudos já descritos na literatura, incluindo a encapsulação de outros extratos por *spray dryer*. Na avaliação da viabilidade de ambos os compostos microencapsulados no período de 120 dias, os resultados se mostraram promissores, sendo aptos para a aplicação em alimentos que não necessitam de tratamento térmico antes do envase, sugerindo-se a aplicação dos encapsulados desenvolvidos em gelados comestíveis como o sorvete, bebidas não pasteurizadas como a kombucha e sucos prensados a frio, além

da aplicação em manteigas e outros alimentos refrigerados ou congelados. Em relação a estabilidade do extrato de betalainas microencapsulado, obteve-se êxito na proteção desse pigmento com resultados satisfatórios, pois como observado no armazenamento em temperaturas de 25 °C e 8 °C do extrato sem a proteção da microcápsula, perdeu-se a estabilidade em 15 dias. Assim, pela primeira vez, se obteve sucesso na co-encapsulação por *spray dryer* de *L. plantarum* e betalainas, tornando-se possível a aplicação dessa tecnologia na proteção de ambos compostos, propondo-se a aplicar dessa formulação polifuncionais em alimentos que não sofram tratamento térmicos antes do envase. Frente ao exposto nota-se que a utilização do caule de beterraba que atualmente é descartado, tornando-se um resíduo, poderá ser aplicado a novas tecnologias na elaboração de super alimentos, a fim de reduzir os impactos ambientais e agregar valor a essa matriz vegetal rica em nutrientes e ainda pouco explorada.

5 Referências

- Abuga, I., Sulaiman, S. F., Wahab, R. A., Ooi, K. L., & Rasad, M. S. B. A. (2021). Phytochemical constituents and antibacterial activities of 45 Malay traditional medicinal plants. *Journal of Herbal Medicine*, 100496. <https://doi.org/10.1016/J.HERMED.2021.100496>
- Amjadi, S., Ghorbani, M., Hamishehkar, H., & Roufegarinejad, L. (2018). Improvement in the stability of betanin by liposomal nanocarriers: Its application in gummy candy as a food model. *Food Chemistry*, 256, 156–162. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2018.02.114>
- Antigo, J. L. D., Stafussa, A. P., de Cassia Bergamasco, R., & Madrona, G. S. (2020). Chia seed mucilage as a potential encapsulating agent of a natural food dye. *Journal of Food Engineering*, 285, 110101. <https://doi.org/10.1016/J.JFOODENG.2020.110101>

Bianchi, F., Pünsch, M., & Venir, E. (2021). Effect of Processing and Storage on the Quality of Beetroot and Apple Mixed Juice. *Foods* 2021, Vol. 10, Page 1052, 10(5), 1052.

<https://doi.org/10.3390/FOODS10051052>

Chhikara, N., Kushwaha, K., Sharma, P., Gat, Y., & Panghal, A. (2019). Bioactive compounds of beetroot and utilization in food processing industry: A critical review. In *Food Chemistry* (Vol. 272, pp. 192–200). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.022>

Chuah, L. O., & Mao, Y. (2020). Stability assessment and improvement of a *Lactobacillus plantarum* mutant with low post-fermentation acidification characteristics. *Journal of Dairy Science*, 103(9), 7898–7907. <https://doi.org/10.3168/JDS.2020-18285>

Coghetto, C. C., Brinques, G. B., Siqueira, N. M., Pletsch, J., Soares, R. M. D., & Ayub, M. A. Z. (2016). Electrospraying microencapsulation of *Lactobacillus plantarum* enhances cell viability under refrigeration storage and simulated gastric and intestinal fluids. *Journal of Functional Foods*, 24, 316–326. <https://doi.org/10.1016/J.JFF.2016.03.036>

Coman, V., Teleky, B. E., Mitrea, L., Martău, G. A., Szabo, K., Călinoiu, L. F., & Vodnar, D. C. (2020). Bioactive potential of fruit and vegetable wastes. *Advances in Food and Nutrition Research*, 91, 157–225. <https://doi.org/10.1016/BS.AFNR.2019.07.001>

Cunningham, M., Azcarate-Peril, M. A., Barnard, A., Benoit, V., Grimaldi, R., Guyonnet, D., Holscher, H. D., Hunter, K., Manurung, S., Obis, D., Petrova, M. I., Steinert, R. E., Swanson, K. S., van Sinderen, D., Vulevic, J., & Gibson, G. R. (2021). Shaping the Future of Probiotics and Prebiotics. *Trends in Microbiology*, 29(8), 667–685.

<https://doi.org/10.1016/J.TIM.2021.01.003>

Dias, S., Castanheira, E. M. S., Fortes, A. G., Pereira, D. M., Rodrigues, A. R. O., Pereira, R., & Gonçalves, M. S. T. (2020). Application of Natural Pigments in Ordinary Cooked Ham.

Molecules 2020, Vol. 25, Page 2241, 25(9), 2241.

<https://doi.org/10.3390/MOLECULES25092241>

- Emser, K., Barbosa, J., Teixeira, P., & Bernardo de Morais, A. M. M. (2017). *Lactobacillus plantarum* survival during the osmotic dehydration and storage of probiotic cut apple. *Journal of Functional Foods*, 38, 519–528. <https://doi.org/10.1016/J.JFF.2017.09.021>
- Etchepare, M. de A., Raddatz, G. C., Cichoski, A. J., Flores, É. M. M., Barin, J. S., Queiroz Zepka, L., Jacob-Lopes, E., Grosso, C. R. F., & de Menezes, C. R. (2016). Effect of resistant starch (Hi-maize) on the survival of *Lactobacillus acidophilus* microencapsulated with sodium alginate. *Journal of Functional Foods*, 21, 321–329. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.12.025>
- Etchepare, M. de A., Nunes, G. L., Nicoloso, B. R., Barin, J. S., Moraes Flores, E. M., de Oliveira Mello, R., & Ragagnin de Menezes, C. (2020). Improvement of the viability of encapsulated probiotics using whey proteins. *LWT*, 117, 108601. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2019.108601>
- FAO/WHO (2002) Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization, London, Ontario.www.who.int/foodsafety/fs_management/en/probiotic_guidelines.pdf
- Fernando, G. S. N., Wood, K., Papaioannou, E. H., Marshall, L. J., Sergeeva, N. N., & Boesch, C. (2021). Application of an Ultrasound-Assisted Extraction Method to Recover Betalains and Polyphenols from Red Beetroot Waste. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 9(26), 8736–8747. <https://doi.org/10.1021/ACSSUSCHEMENG.1C01203>
- Hansen, T., & Thomsen, T. U. (2018). The influence of consumers' interest in healthy eating, definitions of healthy eating, and personal values on perceived dietary quality. *Food Policy*, 80, 55–67. <https://doi.org/10.1016/j.foodpol.2018.09.002>
- Herbach, K. M., Stintzing, F. C., & Carle, R. (2004). Impact of thermal treatment on color and pigment pattern of red beet (*Beta vulgaris* L.) preparations. *Journal of Food Science*, 69(6). <https://doi.org/10.1111/J.1365-2621.2004.TB10994.X>

- Hidalgo, A., Brandolini, A., Čanadanović-Brunet, J., Četković, G., & Tumbas Šaponjac, V. (2018). Microencapsulates and extracts from red beetroot pomace modify antioxidant capacity, heat damage and colour of pseudocereals-enriched einkorn water biscuits. *Food Chemistry*, 268, 40–48. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2018.06.062>
- Homayouni-Rad, A., Mortazavian, A. M., Mashkani, M. G., Hajipour, N., & Pourjafar, H. (2021). Effect of *Alyssum homolocarpum* mucilage and inulin microencapsulation on the survivability of *Lactobacillus casei* in simulated gastrointestinal and high-temperature conditions. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 35, 102075. <https://doi.org/10.1016/J.BCAB.2021.102075>
- Hu, H., Yao, X., Qin, Y., Yong, H., & Liu, J. (2020). Development of multifunctional food packaging by incorporating betalains from vegetable amaranth (*Amaranthus tricolor* L.) into quaternary ammonium chitosan/fish gelatin blend films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 159, 675–684. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2020.05.103>
- Iaconelli, C., Lemetais, G., Kechaou, N., Chain, F., Bermúdez-Humarán, L. G., Langella, P., Gervais, P., & Beney, L. (2015). Drying process strongly affects probiotics viability and functionalities. *Journal of Biotechnology*, 214, 17–26. <https://doi.org/10.1016/J.JBIOTECH.2015.08.022>
- Janiszewska, E. (2014). Microencapsulated beetroot juice as a potential source of betalain. *Powder Technology*, 264, 190–196. <https://doi.org/10.1016/J.POWTECH.2014.05.032>
- Jouki, M., Khazaei, N., Rezaei, F., & Taghavian-Saeid, R. (2021). Production of synbiotic freeze-dried yoghurt powder using microencapsulation and cryopreservation of *L. plantarum* in alginate-skim milk microcapsules. *International Dairy Journal*, 122, 105133. <https://doi.org/10.1016/J.IDAIRYJ.2021.105133>
- Kaur, S., Kaur, N., Aggarwal, P., & Grover, K. (2021). Bioactive compounds, antioxidant activity, and color retention of beetroot (*Beta vulgaris* L.) powder: Effect of steam blanching

with refrigeration and storage. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(3), e15247.

<https://doi.org/10.1111/JFPP.15247>

Kayın, N., Atalay, D., Türken Akçay, T., & Erge, H. S. (2019). Color stability and change in bioactive compounds of red beet juice concentrate stored at different temperatures. *Journal of Food Science and Technology*, 56(11), 5097–5106.

<https://doi.org/10.1007/s13197-019-03982-5>

Koirala, S., & Anal, A. K. (2021). Probiotics-based foods and beverages as future foods and their overall safety and regulatory claims. *Future Foods*, 3, 100013.

<https://doi.org/10.1016/J.FUFO.2021.100013>

Kuley, E., Kuscu, M. M., Durmus, M., & Ucar, Y. (2021). Inhibitory activity of Co-microencapsulation of cell free supernatant from *Lactobacillus plantarum* with propolis extracts towards fish spoilage bacteria. *LWT*, 146, 111433.

<https://doi.org/10.1016/J.LWT.2021.111433>

Lages, L. Z., Radünz, M., Gonçalves, B. T., Silva da Rosa, R., Fouchy, M. V., de Cássia dos Santos da Conceição, R., Gularte, M. A., Barboza Mendonça, C. R., & Gandra, E. A. (2021). Microbiological and sensory evaluation of meat sausage using thyme (*Thymus vulgaris*, L.) essential oil and powdered beet juice (*Beta vulgaris* L., Early Wonder cultivar). *LWT*, 148, 111794. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2021.111794>

Laqui-Vilca, C., Aguilar-Tuesta, S., Mamani-Navarro, W., Montaña-Bustamante, J., & Condezo-Hoyos, L. (2018). Ultrasound-assisted optimal extraction and thermal stability of betalains from colored quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) hulls. *Industrial Crops and Products*, 111, 606–614. <https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2017.11.034>

Liu, B., Fu, N., Woo, M. W., & Chen, X. D. (2018). Heat stability of *Lactobacillus rhamnosus* GG and its cellular membrane during droplet drying and heat treatment. *Food Research International*, 112, 56–65. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2018.06.006>

- Machado Vasconcelos, L. I., Silva-Buzanello, R. A. da, Kalschne, D. L., Scremin, F. R., Stival Bittencourt, P. R., Gaudêncio Dias, J. T., Canan, C., & Corso, M. P. (2021). Functional fermented sausages incorporated with microencapsulated *Lactobacillus plantarum* BG 112 in Acrycoat S100. *LWT*, 148, 111596. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2021.111596>
- Madureira, A. R., Amorim, M., Gomes, A. M., Pintado, M. E., & Malcata, F. X. (2011). Protective effect of whey cheese matrix on probiotic strains exposed to simulated gastrointestinal conditions. *Food Research International*, 44(1), 465–470. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.09.010>
- Mahmoud, M., Abdallah, N. A., El-Shafei, K., Tawfik, N. F., & El-Sayed, H. S. (2020). Survivability of alginate-microencapsulated *Lactobacillus plantarum* during storage, simulated food processing and gastrointestinal conditions. *Heliyon*, 6(3), e03541. <https://doi.org/10.1016/J.HELIYON.2020.E03541>
- Manzoor, M., Singh, J., Gani, A., & Noor, N. (2021, May 16). Valorization of natural colors as health-promoting bioactive compounds: Phytochemical profile, extraction techniques, and pharmacological perspectives - ScienceDirect. *Food Chemistry* 362, 130–141. <https://www-sciencedirect.ez47.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S030881462101147X>
- Misra, S., Pandey, P., & Mishra, H. N. (2021). Novel approaches for co-encapsulation of probiotic bacteria with bioactive compounds, their health benefits and functional food product development: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 109, 340–351. <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2021.01.039>
- Nualkaekul, S., & Charalamp, D. (2011). Survival of *Lactobacillus plantarum* in model solutions and fruit juices. *International Journal of Food Microbiology*, 146(2), 111–117. <https://doi.org/10.1016/J.IJFOODMICRO.2011.01.040>

- Nunes, G. L., Etchepare, M. de A., Cichoski, A. J., Zepka, L. Q., Jacob Lopes, E., Barin, J. S., Flores, É. M. de M., da Silva, C. de B., & de Menezes, C. R. (2018). Inulin, hi-maize, and trehalose as thermal protectants for increasing viability of *Lactobacillus acidophilus* encapsulated by spray drying. *LWT - Food Science and Technology*, 89(October 2017), 128–133. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.10.032>
- Oliveira, A. C., Moretti, T. S., Boschini, C., Baliero, J. C. C., Freitas, O., & Favaro-Trindade, C. S. (2007). Stability of microencapsulated *B. lactis* (BI 01) and *L. acidophilus* (LAC 4) by complex coacervation followed by spray drying. *Journal of Microencapsulation*, 24(7), 685–693. <https://doi.org/10.1080/02652040701532908>
- Omae, J. M., Goto, P. A., Rodrigues, L. M., dos Santos, S. S., Paraiso, C. M., Madrona, G. S., & de Cássia Bergamasco, R. (2017). Beetroot extract encapsulated in inulin: Storage stability and incorporation in sorbet. *Chemical Engineering Transactions*, 57, 1843–1848. <https://doi.org/10.3303/CET1757308>
- Ortiz-Basurto, R. I., Rubio-Ibarra, M. E., Ragazzo-Sanchez, J. A., Beristain, C. I., & Jiménez-Fernández, M. (2017). Microencapsulation of *Eugenia uniflora* L. juice by spray drying using fructans with different degrees of polymerisation. *Carbohydrate Polymers*, 175, 603–609. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2017.08.030>
- Otalora, C. M., Bonifazi, E., Fissore, E. N., Basanta, F., & Gerschenson, L. N. (2020). Thermal Stability of Betalains in By-Products of the Blanching and Cutting of *Beta vulgaris* L. var *conditiva*. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 70(1), 15–24. <http://journal.pan.olsztyn.pl>
- Pagano, A. P. E., Khalid, N., Kobayashi, I., Nakajima, M., Neves, M. A., & Bastos, E. L. (2018). Microencapsulation of betanin in monodisperse W/O/W emulsions. *Food Research International*, 109, 489–496. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2018.04.053>

- Paula, D. de A., Martins, E. M. F., Costa, N. de A., de Oliveira, P. M., de Oliveira, E. B., & Ramos, A. M. (2019). Use of gelatin and gum arabic for microencapsulation of probiotic cells from *Lactobacillus plantarum* by a dual process combining double emulsification followed by complex coacervation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 133, 722–731. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2019.04.110>
- Petraitytė, S., & Šipailienė, A. (2019). Enhancing encapsulation efficiency of alginate capsules containing lactic acid bacteria by using different divalent cross-linkers sources. *LWT*, 110, 307–315. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.01.065>
- Pires, E. O., Caleja, C., Garcia, C. C., Ferreira, I. C. F. R., & Barros, L. (2021). Current status of genus *Impatiens*: Bioactive compounds and natural pigments with health benefits. *Trends in Food Science & Technology*. <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2021.01.074>
- Pupa, P., Apiwatsiri, P., Sirichokchatchawan, W., Pirarat, N., Muangsin, N., Shah, A. A., & Prapasarakul, N. (2021). The efficacy of three double-microencapsulation methods for preservation of probiotic bacteria. *Scientific Reports* 2021 11:1, 11(1), 1–9. <https://doi.org/10.1038/S41598-021-93263-Z>
- Raddatz, G. C., & Menezes, C. R. de. (2021). Microencapsulation and co-encapsulation of bioactive compounds for application in food: challenges and perspectives. *Ciência Rural*, 51(3), 1–8. <https://doi.org/10.1590/0103-8478CR20200616>
- Rodriguez-Amaya, D. B. (2019). Betalains. *Encyclopedia of Food Chemistry*, 35–39. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.21607-7>
- Sabarez, H. (2021). Plant, Equipment and Utilities: Driers and Powder Packaging. Reference Module in Food Science. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818766-1.00247-6>
- Sadowska-Bartosz, I., & Bartosz, G. (2021). Biological Properties and Applications of Betalains. *Molecules*, 26(9). <https://doi.org/10.3390/MOLECULES26092520>

- Sawicki, T., Bączek, N., & Wiczowski, W. (2016). Betalain profile, content and antioxidant capacity of red beetroot dependent on the genotype and root part. *Journal of Functional Foods*, 27, 249–261. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.09.004>
- Sharifi, S., Rezazad-Bari, M., Alizadeh, M., Almasi, H., & Amiri, S. (2021). Use of whey protein isolate and gum Arabic for the co-encapsulation of probiotic *Lactobacillus plantarum* and phytosterols by complex coacervation: Enhanced viability of probiotic in Iranian white cheese. *Food Hydrocolloids*, 113, 106496. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2020.106496>
- Sharifi-Rad, J., Rodrigues, C. F., Stojanović-Radić, Z., Dimitrijević, M., Aleksić, A., Neffe-Skocińska, K., Zielińska, D., Kołożyn-Krajewska, D., Salehi, B., Prabu, S. M., Schutz, F., Docea, A. O., Martins, N., & Calina, D. (2020). Probiotics: Versatile Bioactive Components in Promoting Human Health. *Medicina*, 56(9), 1–30. <https://doi.org/10.3390/MEDICINA56090433>
- Sheu, T. Y., Marshall, R. T., & Heymann, H. (1993). Improving Survival of Culture Bacteria in Frozen Desserts by Microentrapment. *Journal of Dairy Science*, 76(7), 1902–1907. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(93\)77523-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(93)77523-2)
- Silva, J. P. P., Bolanho, B. C., Stevanato, N., Massa, T. B., & Silva, C. da. (2020). Ultrasound-assisted extraction of red beet pigments (*Beta vulgaris* L.): Influence of operational parameters and kinetic modeling. *Journal of Food Processing and Preservation*, 44(10), e14762. <https://doi.org/10.1111/JFPP.14762>
- Skalicky, M., Kubes, J., Shokoofeh, H., Tahjib-Ul-Arif, Md., Vachova, P., & Hejnak, V. (2020). Betacyanins and Betaxanthins in Cultivated Varieties of *Beta vulgaris* L. Compared to Weed Beets. *Molecules* 2020, Vol. 25, Page 5395, 25(22), 5395. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES25225395>
- Snigdha, S., Ha, K., Tsai, P., Dinan, T. G., Bartos, J. D., & Shahid, M. (2021). Probiotics: Potential novel therapeutics for microbiota-gut-brain axis dysfunction across gender and

lifespan. *Pharmacology & Therapeutics*, 107978.

<https://doi.org/10.1016/J.PHARMTHERA.2021.107978>

Spiegel, M., Gamian, A., & Sroka, Z. (2021). Antiradical Activity of Beetroot (*Beta vulgaris* L.) Betalains. *Molecules*, 26(9). <https://doi.org/10.3390/MOLECULES26092439>

Sravan Kumar, S., Singh Chauhan, A., & Giridhar, P. (2020). Nanoliposomal encapsulation mediated enhancement of betalain stability: Characterisation, storage stability and antioxidant activity of *Basella rubra* L. fruits for its applications in vegan gummy candies. *Food Chemistry*, 333, 127442. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2020.127442>

Teo, A., Lam, Y., Lee, S. J., & Goh, K. K. T. (2021). Spray drying of whey protein stabilized nanoemulsions containing different wall materials – maltodextrin or trehalose. *LWT*, 136, 110344. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2020.110344>

Terpou, A., Papadaki, A., Lappa, I. K., Kachrimanidou, V., Bosnea, L. A., & Kopsahelis, N. (2019). Probiotics in Food Systems: Significance and Emerging Strategies Towards Improved Viability and Delivery of Enhanced Beneficial Value. *Nutrients*, 11(7). <https://doi.org/10.3390/NU11071591>

Tossi, V. E., Martínez Tosar, L., Pitta-Álvarez, S. I., & Causin, H. F. (2021). Casting light on the pathway to betalain biosynthesis: A review. In *Environmental and Experimental Botany* (Vol. 186, p. 104464). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2021.104464>

Vizireanu, M., & Hruschka, D. (2018). Lay Perceptions of Healthy Eating Styles and Their Health Impacts. *Journal of Nutrition Education and Behavior*, 50(4), 365-371.e1. <https://doi.org/10.1016/j.jneb.2017.12.012>

Westfall, S., Carracci, F., Estill, M., Zhao, D., Wu, Q., Shen, L., Simon, J., & Pasinetti, G. M. (2021). Optimization of probiotic therapeutics using machine learning in an artificial human gastrointestinal tract. *Scientific Reports*, 11(1). <https://doi.org/10.1038/S41598-020-79947-Y>

Yoha, K. S., Nida, S., Dutta, S., Moses, J. A., & Anandharamakrishnan, C. (2021). Targeted Delivery of Probiotics: Perspectives on Research and Commercialization. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 1. <https://doi.org/10.1007/S12602-021-09791-7>

Zendeboodi, F., Khorshidian, N., Mortazavian, A. M., & da Cruz, A. G. (2020). Probiotic: conceptualization from a new approach. *Current Opinion in Food Science*, 32, 103–123. <https://doi.org/10.1016/J.COFS.2020.03.009>

Zhang, W., Sun, Z., Bilige, M., & Zhang, H. (2015). Complete genome sequence of probiotic *Lactobacillus plantarum* P-8 with antibacterial activity. *Journal of Biotechnology*, 193, 41–42. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2014.11.011>

4 DISCUSSÃO GERAL

4.1 Extrato obtido do caule de beterraba vermelha

A utilização do caule de beterraba como potencial fonte de betalaínas foi alcançada com sucesso. Os resíduos de alimentos são um grande problema para o meio ambiente, assim identificar formas de reaproveitamento se faz necessário no momento atual (CHHIKARA et al., 2019; ZIN, MÁRKI e BÁNVÖLGYI, 2020). A utilização do caule de beterraba no presente estudo para fins de aplicação em matrizes de alimentos com o propósito de agregar saúde se mostrou promissora, considerando assim uma forte tendência para as próximas pesquisas (RÓZYŁO, 2020). Além disso, a utilização de água como meio de extração se faz necessário. Três principais fatores foram contemplados nessa escolha. O primeiro refere-se a polaridade das betalaínas (TOSSI et al., 2021), onde caracterizam-se pela alta solúveis em água e por isso são facilmente removidas por esse solvente (MIGUEL, 2018), em seguida, observa-se que a utilização de solventes orgânicos para a extração mais eficiente das betalaínas para um fim de aplicação em alimentos é preocupante, pois irá necessitar de posterior evaporação do mesmo, podendo elevar o tempo de processo e de custos (NIRMAL, MEREDDY e MAQSOOD, 2021), e por fim, um terceiro ponto é levantado onde, almeja processos rápidos e eficientes na extração desse composto, pois as betalaínas são sensíveis principalmente à exposição ao oxigênio e luz. Assim, reduzir o contato prévio é de extrema relevância para se manter a estabilidade do pigmento para posteriores aplicações em alimentos. Recentes estudos reforçam a já conhecida sensibilidade das betalaínas a esses fatores extrínsecos (YANG et al., 2021; KAIMAINEN et al., 2015).

Por fim, ao estudar a estabilidade das betalaínas por 7 dias de armazenamento em diferentes temperaturas ao abrigo da luz, observou-se uma alta reatividade dessa composto com o oxigênio (HERBACH; STINTZING; CARLE, 2006; ESATBEYOGLU *et al.*, 2015), sendo que a condição de congelamento se revelou mais eficiente na preservação da cor e estabilidade das betalaínas ao longo do tempo, resultado esse que explica-se parcialmente pela inexistência do oxigênio e da nula reações químicas do extrato possa a sofrer em condições diferentes (GARCIA-BARRERA et al., 1998; ROY et al., 2004). Por seguinte, a utilização deste extrato microencapsulado será extremamente importante para a proteção da viabilidade do pigmento vermelho de beterraba.

4.2 Caracterização geral das microcápsulas obtidas por *Spray dryer*

A caracterização das microcápsulas foi estudada, onde observa-se resultados próximos aos relatados por ROSA et al., (2019), onde microencapsulou outros compostos bioativos pigmentados (antocianinas). Aspectos como a eficiência de encapsulação para os probióticos foram relativamente satisfatórios, sendo alcançada uma eficiência aproximada de ~ 75%, e para ~ 62%, resultado esse que se repetiu para (ANTIGO *et al.*, 2020). No que se refere a características morfológicas observadas em MEV, nota-se que alguns aspectos, como a presença do extrato de betalaínas na concentração de 100%, não foi a ideal para reproduzir microcápsulas semelhantes ao padrão testado, porém a concentração de 50% mostrou-se compatível a produzir partículas com características semelhantes ou superiores ao padrão. No geral a microcápsula padrão e com 50% de extrato apresentaram características arredondadas com rugosidades aparentes e aglomeradas, já para 100% de extrato observou-se estruturas desuniformes, sem estrutura definida com uma superfície irregular e aglomeração aparente. Porém, as ranhuras, parâmetro importante a ser contemplado, não foi observado na microscopia, revelando assim um aspecto positivo, pois inviabiliza a ação de oxigênio que pode degradar rapidamente as betalaínas e afetar de forma moderada a viabilidade dos probióticos (ORTIZ-BASURTO et al., 2017). Além disso, foi possível notar que a concentração de 12% de sólidos foi baixa comparado a outros estudos (FRÖHLICH et al., 2021; JAFARI et al., 2021). Essa concentração foi estudada pois, testes prévios com concentrações de 16% e 20% de sólidos deixaram a microcápsula com uma resistência elevada, impossibilitando o rompimento e quantificação de ambos compostos.

4.3 Avaliação da viabilidade do probiótico e de betalaínas durante o armazenamento

Nas condições de armazenamento simuladas, foi diagnosticado que a temperatura de congelamento foi a que melhor preservou ambos os compostos, igualmente elucidado por (COGHHTTO *et al.*, 2016; MAHMOUD *et al.*, 2020). Acredita-se que essa condição é a mais favorável para preservar os compostos de interesse microencapsulados, pois as baixas temperaturas retardam significativamente as reações químicas que possam ocasionar degradação, tanto das betalaínas como a redução da viabilidade dos probióticos.

O desenvolvimento de tecnologias alternativas para a proteção desses pigmentos é de extrema importância, portanto, é reconhecida a relevância do estudo da co-encapsulação

destes compostos, pois será essencial essa entrega ao mercado a fim de mantê-los viáveis, evitando degradações e facilitando a aplicação em matrizes alimentícias (PUPA *et al.*, 2021).

4.4 Avaliação da resistência de ambos compostos no tratamento térmico e simulação do sistema digestivo *in vitro*

Ao avaliar os tratamentos encapsulados em condições que simulem pasteurização e a passagem pelo sistema digestivo, notou-se que os mesmos proporcionaram uma parcial proteção à ambos os compostos. Resultados similares foram retratados por XIAO *et al.*, (2020), onde acredita-se que há uma relação significativa na redução da viabilidade probiótica proporcionada pelo estudo de diferentes cepas, materiais e métodos de encapsulação. Além disso, notou-se que a concentração de 100% de extrato presente no tratamento T4 foi extrapolante e influenciou de forma não esperada frente a viabilidade dos probióticos, no entanto, se reconhece que uma ligeira atividade antimicrobiana presente no extrato possa ter sido a responsável por esse resultado. Em contrapartida, as betalaínas co-encapsuladas foram protegidas em sua maioria (CHHIKARA *et al.*, 2019, SADOWSKA-BARTOSZ & BARTOSZ, 2021).

De modo geral, os resultados obtidos revelam que a co-encapsulação de ambos compostos foi alcançada com êxito, sendo assim eficiente em proteger as bactérias probióticas e as betalaínas durante o armazenamento por 120 dias. Assim, destaca-se a promissora proteção das betalaínas alcançada nesse estudo, pois a estabilidade foi contemplada ao longo do tempo em comparação ao extrato livre. Por fim, conclui-se que *Lactobacillus plantarum* foi uma cepa probiótica promissora para esse estudo, assim como a inclusão de bioativos do caule de beterraba vermelha, sendo recomendada a aplicação desta formulação polifuncional em alimentos que não necessitem de tratamento térmico pré-envase.

5 CONCLUSÃO GERAL

A co-encapsulação de *Lactobacillus plantarum* e o extrato obtido do caule de beterraba vermelha mostrou-se uma alternativa viável para a proteção de ambos compostos, pois:

- Apresentou uma eficiência de encapsulação superior a 62% para o extrato, e 71% para o probiótico;
- Diâmetros médios (5 μ m - 20 μ m) compatíveis aos achados na literatura;
- Proteção parcial de ambos os compostos no tratamento térmico;
- Proteção parcial dos probióticos frente a simulação do sistema digestivo;
- Manteve a viabilidade dos probióticos e a estabilidade do extrato durante a vida de prateleira na concentração de 50% em ambas temperaturas de armazenamento testadas por um longo período de tempo.

Por fim, a co-encapsulação por spray dryer para probióticos e betalaínas se mostrou viável, pois são escassos os estudos que co-encapsulam *L. plantarum* e betalaínas do caule de beterraba por spray dryer. Essa é a primeira pesquisa que reúne ambos compostos em um único sistema. De acordo com os resultados obtidos no presente trabalho, essa técnica possui considerável potencial para o co-encapsulamento e passível a aplicação em gelados comestíveis como o sorvete, bebidas não pasteurizadas como a kombucha e sucos prensados a frio, além da aplicação em manteigas e outros alimentos refrigerados ou congelados, ampliando assim, a gama de alimentos probióticos e bioativos funcionais.

6 SUGESTÕES

Destaca-se a relevância da ocorrência de novos estudos, com maior profundidade ligados à concentração de sólidos e de extrato, com o intuito de produzir microcápsulas mais resistentes frente às condições adversas. Assim, sugere-se elevar a concentração de sólidos utilizados para a co-encapsulação e redução da concentração do extrato a ser microencapsulado, com o objetivo de aumentar a resistência e elevar a viabilidade de *L. plantarum* durante longos períodos de armazenamento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHN, H. Y. *et al.* Supplementation with two probiotic strains, *Lactobacillus curvatus* HY7601 and *Lactobacillus plantarum* KY1032, reduces fasting triglycerides and enhances apolipoprotein A-V levels in non-diabetic subjects with hypertriglyceridemia. **Atherosclerosis**, v. 241, n. 2, p. 649–656, 2015.
- AJILA, C. M.; PRASADA RAO, U. J. S. Mango peel dietary fibre: Composition and associated bound phenolics. **Journal of Functional Foods**, v. 5, n. 1, p. 444–450, 2013.
- ANDREWS, J. M.; TAN, M. Probiotics in luminal gastroenterology: the current state of play. **Internal medicine journal**, v. 42, n. 12, p. 1287–91, 2012.
- ANTIGO, J. L. D. *et al.* Chia seed mucilage as a potential encapsulating agent of a natural food dye. *Journal of Food Engineering*, v. 285, p.101-110, 2020.
<https://doi.org/10.1016/J.JFOODENG.2020.110101>
- AXELSSON, L.; AHRNÉ, S. Lactic Acid Bacteria. In: Priest F.G., Goodfellow M. (eds) *Applied Microbial Systematics*. **Springer, Dordrecht**, p. 367–388, 2000.
- BARATHIKANNAN, K. *et al.* Gut Microbiome Modulation Based on Probiotic Application for Anti-Obesity: A Review on Efficacy and Validation. **Microorganisms**, v. 7, n. 10, 2019.
- BARRETO, B.; GUILLERMO, L.; ETCHEPARE, A. Materiais de revestimento utilizados na microencapsulação de probióticos. **Ciência e Natura**. v. 37, n. 5, p. 164–174, 2015.
- BEN SLAMA, R. *et al.* Anti-listerial and Anti-biofilm Activities of Potential Probiotic *Lactobacillus* Strains Isolated from Tunisian Traditional Fermented Food. **Journal of Food Safety**, v. 33, n. 1, p. 8–16, fev. 2013.
- BRASIL. Lista de alegações de propriedade funcional aprovadas. Brasília, 2012a. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/>. Acesso em: 30 Out. 2019.
- ČANADANOVIĆ-BRUNET, J. M. *et al.* Antioxidant and antimicrobial activities of beet root pomace extracts. **Czech Journal of Food Sciences**, v. 29, n. 6, p. 575–585, 2011.
- CARAMIA, G.; SILVI, S. Probiotics: From the Ancient Wisdom to the Actual Therapeutical and Nutraceutical Perspective. **Probiotic Bacteria and Enteric Infections**. **Dordrecht: Springer Netherlands**, p. 3–37, 2011.
- CHANDRA, A. K. Goitrogen in food: Cyanogenic and flavonoids containing plant foods in the development of goiter. **Bioactive Foods in Promoting Health**. ed. 1, p. 691–716, 2010.
- CHEN, H. Y. *et al.* Microencapsulation of *Lactobacillus bulgaricus* and survival assays under simulated gastrointestinal conditions. **Journal of Functional Foods**, v. 29, p. 248–255, 2017.
- 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>

CHO, S. S.; FINOCCHIARO, E. T. **Handbook of prebiotics and probiotics ingredients: Health benefits and food applications**. 1. ed. New York: Ed. CRC Press, 2009. 381-417 p.

CHO, Y. J. *et al.* Characterization of yeasts isolated from kefir as a probiotic and its synergic interaction with the wine byproduct grape seed flour/extract. **LWT- Food Science and Technology**, v. 90, p. 535–539, 1 abr. 2018.

COGHETTO, C. C. *et al.* Electrospraying microencapsulation of *Lactobacillus plantarum* enhances cell viability under refrigeration storage and simulated gastric and intestinal fluids. **Journal of Functional Foods**, 24, 316–326, 2016. <https://doi.org/10.1016/J.JFF.2016.03.036>

CONSTANTE, M. *et al.* Iron supplements modulate colon microbiota composition and potentiate the protective effects of probiotics in dextran sodium sulfate-induced colitis. **Inflammatory bowel diseases**, v. 23, n. 5, p. 753–766, 2017.

DELIA, S. C. *et al.* Spray drying microencapsulation of betalain rich extracts from *Escontria chiotilla* and *Stenocereus queretaroensis* fruits using cactus mucilage. **Food Chemistry**, v. 272, p. 715–722, 2018.

DEMIRBAS, A. Waste management, waste resource facilities and waste conversion processes. **Energy Conversion and Management**, v. 52, n. 2, p. 1280–1287, 2011.

DRUSCH, S.; MANNINO, S. Patent-based review on industrial approaches for the microencapsulation of oils rich in polyunsaturated fatty acids. **Trends in Food Science and Technology**, v. 20, p. 237-244, 2009.

ENCINA, C. *et al.* Conventional spray-drying and future trends for the microencapsulation of fish oil. **Trends in Food Science and Technology**, v. 56, p. 46-601, 2016

EOR, J. Y. *et al.* Laxative effect of probiotic chocolate on loperamide-induced constipation in rats. **Food Research International**, v. 116, p. 1173–1182, 2019.

ERKAYA, T. *et al.* Probiotic butter: Stability, free fatty acid composition and some quality parameters during refrigerated storage. **International Dairy Journal**, v. 49, p. 102–110, 2015.

ESATBEYOGLU, T. *et al.* Betanin-A food colorant with biological activity. **Molecular Nutrition and Food Research**, v. 59, p. 36-47, 2015

ETCHEPARE, M. *et al.* Improvement of the viability of encapsulated probiotics using whey proteins. **LWT- Food Science and Technology**, v. 117, p. 108 116, 2020.

FAO/ WHO. Food and agriculture organization of the united nations / world health organization. Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria: **Report of a Joint Food and Agriculture Organization of the United Nations, World Health Organization Expert Consultation**, Córdoba, Argentina, 2001.

FARABEGOLI, F. *et al.* Betalains increase vitexin-2-O-xyloside cytotoxicity in CaCo-2 cancer cells. **Food Chemistry**, v. 218, p. 356–364, 2017.

FRÖHLICH, J. A., RAIBER, T. V., HINRICHS, J., & KOHLUS, R. Nozzle zone agglomeration in spray dryers: Influence of total solid content on agglomerate properties. **Powder Technology**, 390, 292–302, 2021. <https://doi.org/10.1016/J.POWTEC.2021.05.094>

FULLER, Roy. Probiotics. Springer Netherlands. The scientific basis, 1992. <https://doi.org/10.1007/978-94-011-2364-8>

GANDÍA-HERRERO, F.; ESCRIBANO, J.; GARCÍA-CARMONA, F. Biological Activities of Plant Pigments Betalains. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 56, n. 6, p. 937–945, 2016.

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>

GENGATHARAN, A.; DYKES, G. A.; CHOO, W. S. Betalains: Natural plant pigments with potential application in functional foods. **LWT- Food Science and Technology**, v. 64, n. 2, p. 645-649, 2015.

GEORGIEV, V. *et al.* Betalain production in plant in vitro systems. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 30, n. 5, p. 581-593, 2008.

GEORGIEV, V. G. *et al.* Antioxidant activity and phenolic content of betalain extracts from intact plants and hairy root cultures of the red beetroot *Beta vulgaris* cv. Detroit Dark Red. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 65, n. 2, p. 105–111, 2010.

GEORGIEVA, R. *et al.* Technological properties of candidate probiotic *Lactobacillus plantarum* strains. **International Dairy Journal**, v. 19, n. 11, p. 696–702, 2009.

GHARSALLAOUI, A. *et al.* Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. **Food Research International**, n. 40, p. 1107-1121, 2007.

GHUMAN, S. *et al.* Antioxidant, anti-inflammatory and wound healing properties of medicinal plant extracts used to treat wounds and dermatological disorders. **South African Journal of Botany**, v. 126, p. 232–240, 2019.

GLISZCZYŃSKA-ŚWIGŁO, A.; SZYMUSIAK, H.; MALINOWSKA, P. Betanin, the main pigment of red beet: Molecular origin of its exceptionally high free radical-scavenging activity. **Food Additives and Contaminants**, v. 23, n. 11, p. 1079–1087, 2006.

GOMES, A. P. O. *et al.* Organic beet leaves and stalk juice attenuates HDL-C reduction induced by high-fat meal in dyslipidemic patients: A pilot randomized controlled trial. **Nutrition**, v. 65, p. 68–73, 2019.

González-Ortega, R., Faieta, M., di Mattia, C. D., Valbonetti, L., & Pittia, P. (2020). Microencapsulation of olive leaf extract by freeze-drying: Effect of carrier composition on process efficiency and technological properties of the powders. *Journal of Food Engineering*,

285, 110089. <https://doi.org/10.1016/J.JFOODENG.2020.110089>

GUÉRIN, D.; VUILLEMARD, J. C.; SUBIRADE, M. Protection of bifidobacteria encapsulated in polysaccharide-protein gel beads against gastric juice and bile. **Journal of Food Protection**, v. 66, n. 11, p. 2076–2084, 2003.

HANSEN, T.; THOMSEN, T. U. The influence of consumers' interest in healthy eating, definitions of healthy eating, and personal values on perceived dietary quality. **Food Policy**, v. 80, p. 55–67, 2018.

HARISH, K.; VARGHESE, T. Probiotics in humans—evidence based review. **Calicut Med J**, v. 4, n. 4, p. 1-11, 2006.

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

HILL, C. *et al.* Expert consensus document: The international scientific association for probiotics and prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. **Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology**, v. 11, n. 8, p. 506–514, 2014.

HOMAYOUNI, A. *et al.* Functional Dairy Probiotic Food Development: Trends, Concepts, and Products. **Probiotics**, p. 197-212, 2012.

HUANG, S. *et al.* Double use of highly concentrated sweet whey to improve the biomass production and viability of spray-dried probiotic bacteria. **Journal of Functional Foods**, v. 23, p. 453–463, 2016.

JAFARI, S. M., ARPAGAUS, C., CERQUEIRA, M. A., & SAMBORSKA, K.. Nano spray drying of food ingredients; materials, processing and applications. **Trends in Food Science & Technology**, 109, 632–646, 2021. <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2021.01.061>

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>

KAPADIA, G. J.; RAO, G. S. Anticancer effects of red beet pigments. red beet biotechnology. **Food and Pharmaceutical Applications**, p. 125–154, 2013.

KESHANI, S. *et al.* Spray drying: An overview on wall deposition, process and modeling. **Journal of Food Engineering**, v. 124, n. 11, p. 152-162, 2015.

KHAN, M. I.; GIRIDHAR, P. Plant betalains: Chemistry and biochemistry. **Phytochemistry**, v.117, p. 267-295, 2015

KIDCHOB, T.; KIMURA, S.; IMANISHI, Y. Preparation, structure and release profile of polypeptide microcapsules. **Journal of Controlled Release**, v. 40, n. 3, p. 285–291, 1996

KOTB, E. The biotechnological potential of subtilisin-like fibrinolytic enzyme from a newly isolated *Lactobacillus plantarum* KSK-II in blood destaining and antimicrobials.

Biotechnology Progress, v. 31, n. 2, p. 316–324, 2015.

KWAK, S.-H. *et al.* Cancer Preventive Potential of Kimchi Lactic Acid Bacteria (*Weissella cibaria*, *Lactobacillus plantarum*). **Journal of Cancer Prevention**, v. 19, n. 4, p. 253–258, 2014.

LEE, I. M. *et al.* Effect of physical inactivity on major non-communicable diseases worldwide: An analysis of burden of disease and life expectancy. **The Lancet**, v. 380, n. 9838, p. 219–229, 2012.

LEE, N. K. *et al.* Probiotic potential of *Lactobacillus* strains with anti-allergic effects from kimchi for yogurt starters. **LWT- Food Science and Technology**, v. 58, n. 1, p. 130–134, 2014.

LI, C. *et al.* Carrot juice fermented with *Lactobacillus plantarum* NCU116 ameliorates type 2 diabetes in rats. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 49, p. 11884–11891, 2014.

LYE, H. S. *et al.* The improvement of hypertension by probiotics: Effects on cholesterol, diabetes, renin, and phytoestrogens. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 10, n. 9, p. 3755–3775, 2009.

MAKINEN, K. *et al.* Science and technology for the mastership of probiotic applications in food products. **Journal of Biotechnology**, v. 162, n. 4, p. 356–365, 2012.

MALAGO, J. J.; KONINKX, J. F. J. G. Probiotic-pathogen interactions and enteric cytoprotection. *Probiotic Bacteria and Enteric Infections: Cytoprotection by Probiotic Bacteria*, p. 289–311, 2011.

MAHMOUD, M., ABDALLAH, N. A., EL-SHAFAI, K., TAWFIK, N. F., & EL-SAYED, H. S. Survivability of alginate-microencapsulated *Lactobacillus plantarum* during storage, simulated food processing and gastrointestinal conditions. **Heliyon**, 6(3), e03541, 2020. <https://doi.org/10.1016/J.HELIYON.2020.E03541>

MARCILLO-PARRA, V. *et al.* Encapsulation of bioactive compounds from fruit and vegetable by-products for food application – A review. **Trends in Food Science & Technology**, 116, 11–23, 2021. <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2021.07.009>

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

MIRANDA, R. F. *et al.* Orange juice added with *L. casei*: is there an impact of the probiotic addition methodology on the quality parameters?. **LWT- Food Science and Technology**, v. 106, p. 186–193, 2019

NARAYAN, S. S. *et al.* Probiotics: Current trends in the treatment of diarrhea. **Hong Kong Medical Journal**, v. 16, n. 3, p. 213–218, 2010.

NHU, T. Q. *et al.* Plant extract-based diets differently modulate immune responses and resistance to bacterial infection in striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*). **Fish and**

Shellfish Immunology, v. 92, p. 913–924, 2019.

NIKAN, M.; MANAYI, A. Beta vulgaris L. **Nonvitamin and Nonmineral Nutritional Supplements**, p. 153–158, 2019

NINFALI, P.; ANGELINO, D. Nutritional and functional potential of Beta vulgaris cicla and rubra. **Fitoterapia**, v. 89, n. 1, p. 188–199, 2013.

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>

NOGUCHI, S. *et al.* Lactobacillus plantarum NRIC1832 enhances IL-10 production from CD4 + T cells in vitro. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, v. 76, n. 10, p. 1925–1931, 2012.

O’SULLIVAN, J. J. *et al.* Atomisation technologies used in spray drying in the dairy industry: A review. **Journal of Food Engineering**, n. 243, p. 57–69, 2018

OHLAND, C. L.; MACNAUGHTON, W. K. Probiotic bacteria and intestinal epithelial barrier function. American journal of physiology. **Gastrointestinal and liver physiology**, v. 298, n. 6, p. 807-819, 2010.

ORIVE, G. *et al.* History, challenges and perspectives of cell microencapsulation. **Trends in Biotechnology**, v. 2, n. 22, p. 87-92, 2004.

ORTIZ-BASURTO, R. I. *et al.* Microencapsulation of Eugenia uniflora L. juice by spray drying using fructans with different degrees of polymerisation. **Carbohydrate Polymers**, 175, 603–609, 2017. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2017.08.030>

PATIST, A., & ZOERB, H. (2005). Preservation mechanisms of trehalose in food and biosystems. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 40(2), 107–113. <https://doi.org/10.1016/J.COLSURFB.2004.05.003>

POSSEMIERS, S. *et al.* Bacteria and chocolate: A successful combination for probiotic delivery. **International Journal of Food Microbiology**, v. 141, n. 1–2, p. 97–103, 2010.

PRECZENHAK, A. P. *et al.* Cysteine enhances the content of betalains and polyphenols in fresh-cut red beet. **Food Chemistry**, v. 286, p. 600–607, 2019.

PUPA, P. *et al.* The efficacy of three double-microencapsulation methods for preservation of probiotic bacteria. **Scientific Reports** 2021 11:1, 11(1), 1–9, 2021. <https://doi.org/10.1038/S41598-021-93263-Z>

PUUPPONEN-PIMIÄ, R. *et al.* Development of functional ingredients for gut health. **Trends in Food Science and Technology**, v. 13, n. 1, p. 3–11, 2002.

QUIGLEY, E. M. M. Prebiotics and Probiotics in Digestive Health. **Clinical Gastroenterology and Hepatology**, n. 17, v. 2, p. 333-344, 2019.

RO

- RANADHEERA, C. S.; NAUMOVSKI, N.; AJLOUNI, S. Non-bovine milk products as emerging probiotic carriers: recent developments and innovations. **Current Opinion in Food Science**, n. 22, p. 109-114, 2018
- REALE, A.; DI RENZO, T.; COPPOLA, R. Factors affecting viability of selected probiotics during cheese-making of pasta filata dairy products obtained by direct-to-vat inoculation system. **LWT-Food Science and Technology**, v. 116, p. 108476, 2019.
- RIJKERS, G. T. *et al.* Health benefits and health claims of probiotics: Bridging science and marketing. **British Journal of Nutrition**, v. 106, n. 9, p. 1291–1296, 2011.
- RÓŻYŁO, R. Recent trends in methods used to obtain natural food colorants by freeze-drying. *Trends in Food Science & Technology*, 102, 39–50, 2020. <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2020.06.005>
- ROSA, J. *et al.* Microencapsulation of anthocyanin compounds extracted from blueberry (*Vaccinium spp.*) by spray drying: Characterization, stability and simulated gastrointestinal conditions. **Food Hydrocolloids**, v. 89, p. 742–748, 2019.
- RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Betalains. **Encyclopedia of Food Chemistry**, p. 35–39, 2019.
- 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>
- SAAD, N. *et al.* An overview of the last advances in probiotic and prebiotic field. **LWT - Food Science and Technology**. v. 50, p. 1-16, 2013
- SADOWSKA-BARTOSZ, I., & BARTOSZ, G. Biological Properties and Applications of Betalains. *Molecules*, 26(9), 2021. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES26092520>
- SAIFULLAH, M. *et al.* Micro and nano encapsulation, retention and controlled release of flavor and aroma compounds: A critical review. **Trends in Food Science and Technology**. v. 86 p. 230-251, 2019.
- SALAZAR-ORDÓÑEZ, M.; PÉREZ-HERNÁNDEZ, P. P.; MARTÍN-LOZANO, J. M. Sugar beet for bioethanol production: An approach based on environmental agricultural outputs. **Energy Policy**, v. 55, p. 662–668, 2013.
- SANTOS, C. D. *et al.* Clarification of red beet stalks extract by microfiltration combined with ultrafiltration. **Journal of Food Engineering**, v. 185, p. 35–41, 2016.
- SAMBORSKA, K. *et al.* Green biopolymers from by-products as wall materials for spray drying microencapsulation of phytochemicals. **Trends in Food Science & Technology**, 108, 297–325, 2021. <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2021.01.008>
- SARHAN, M. A. A.; SHATI, A. A.; ELSAID, F. G. Biochemical and molecular studies on the possible influence of the Brassica oleracea and Beta vulgaris extracts to mitigate the effect of food preservatives and food chemical colorants on albino rats. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 21, n. 4, p. 342–354, 2014.

SASIKUMAR, K. *et al.* An exopolysaccharide (EPS) from a *Lactobacillus plantarum* BR2 with potential benefits for making functional foods. **Bioresource Technology**, v. 241, p. 1152–1156, 2017.

DOMINGO, S. J. J. Review of the role of probiotics in gastrointestinal diseases in adults. **Gastroenterología y Hepatología (English Edition)**, v. 40, n. 6, p. 417–429, 2017.

SEEGERS, J. F. M. L. Lactobacilli as live vaccine delivery vectors: Progress and prospects. **Trends in Biotechnology**. v. 20, n. 12, p. 508-515 2002.

SEFTON, M. V. *et al.* Making microencapsulation work: Conformal coating, immobilization gels and in vivo performance. **Journal of Controlled Release**, v. 65, n. 1–2, p. 173–186, 2000

SHAH, N. P. Functional cultures and health benefits. **International Dairy Journal**. v. 17, p. 1262–1277, 2007.

SHAHIDI, F.; AMBIGAIPALAN, P. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects - A review. **Journal of Functional Foods**. v. 18, p. 820-897, 2015

SHISHIR, M. R. I.; CHEN, W. Trends of spray drying: A critical review on drying of fruit and vegetable juices. **Trends in Food Science and Technology**. v. 65, p. 49-67, 2017.

SILVA, L. B. A. R. *et al.* Bioactive food compounds, epigenetics and chronic disease prevention: Focus on early-life interventions with polyphenols. **Food Research International**, v. 125, p. 1-14, 2019.

SILVA, P. T. *et al.* Microencapsulação: Conceitos, mecanismos, métodos e algumas aplicações em tecnologia de alimentos. **Ciencia Rural**. v. 47, n. 7, p. 1304-1311, 2014.

SINGH, A.; VAN DEN MOOTER, G. Spray drying formulation of amorphous solid dispersions. **Advanced Drug Delivery Reviews**. v. 100, p. 27-50, 2016

SINGH, B.; KUMAR, A.; MALIK, A. K. Flavonoids biosynthesis in plants and its further analysis by capillary electrophoresis. **Electrophoresis**. v. 38, n. 6, p. 820-832, 2017.

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

STANTON, C. *et al.* Market potential for probiotics. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 73, n. 2, p. 476s-483s, 2001.

TEIGISEROVA, D. A. *et al.* Review of high-value food waste and food residues biorefineries with focus on unavoidable wastes from processing. **Resources, Conservation and Recycling**,

v. 149, p. 413–426, 2019.

TEIXEIRA, N. *et al.* Wine industry by-product: Full polyphenolic characterization of grape stalks. **Food Chemistry**, v. 268, p. 110–117, 2018.

TIVELLI, S.W. *et al.* **Beterraba: do plantio à comercialização**. Campinas: Instituto agrônomo, 2011. 45 p. (Boletim técnico 210).

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>

TRANI, P.E.; CANTARELLA, H.; TIVELLI, S.W. Produtividade de beterraba em função de doses de sulfato de amônio em cobertura. **Horticultura Brasileira**, v.23, n.3, p.726-730, 2005.

VÁLI, L. *et al.* Liver-protecting effects of table beet (*Beta vulgaris* var. *rubra*) during ischemia-reperfusion. **Nutrition**, v. 23, n. 2, p. 172–178, 2007.

VENKATESAN, P.; MANAVALAN, R.; VALLIAPPAN, K. Microencapsulation: a vital technique in novel drug delivery system. **Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 4, p. 26-35, 2009.

VIZIREANU, M.; HRUSCHKA, D. Lay Perceptions of Healthy Eating Styles and Their Health Impacts. **Journal of Nutrition Education and Behavior**, v. 50, n. 4, p. 365- 37, 2018.

VONK, J. E. *et al.* Activation of old carbon by erosion of coastal and subsea permafrost in Arctic Siberia. **Nature**, v. 489, n. 7414, p. 137–140, 2012.

WALKER, C. *et al.* Comparing environmental and personal health impacts of individual food choices. **Science of the Total Environment**, v. 685, p. 609–620, 2019.

WANG, B. *et al.* Isolation of adhesive strains and evaluation of the colonization and immune response by *Lactobacillus plantarum* L2 in the rat gastrointestinal tract. **International Journal of Food Microbiology**, v. 132, n. 1, p. 59–66, 2009.

XIAO, Yanju. *et al.* Layer (whey protein isolate) -by-layer (xanthan gum) microencapsulation enhances survivability of *L. bulgaricus* and *L. paracasei* under simulated gastrointestinal juice and thermal conditions. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 148, p. 238–247, 2020.

XING, J. *et al.* Determining antioxidant activities of lactobacilli cell-free supernatants by cellular antioxidant assay: A comparison with traditional methods. **PLoS ONE**, v. 10, n. 3, p. 1-16, 2015.

YANG, W.*et al.*, O. Red beet (*Beta vulgaris*) betalains and grape (*Vitis vinifera*) anthocyanins as colorants in white currant juice – Effect of storage on degradation kinetics, color stability and sensory properties. **Food Chemistry**, v. 348, p. 128995, 2021.
<https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2020.128995>

ZAGO, M. *et al.* Characterization and probiotic potential of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from cheeses. **Food Microbiology**, v. 28, n. 5, p. 1033–1040, 2011.

ZHANG, LI *et al.* Antioxidant activity of an exopolysaccharide isolated from *Lactobacillus plantarum* C88. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 54, n. 1, p. 270–275, 2013.

ZHANG, LU; SUN, X. Influence of sugar beet pulp and paper waste as bulking agents on physical, chemical, and microbial properties during green waste composting. **Bioresource Technology**, v. 267, p. 182–191, 2018.

ZHANG, W. *et al.* Complete genome sequence of probiotic *Lactobacillus plantarum* P-8 with antibacterial activity. **Journal of biotechnology**, v. 193, p. 41–2, 2015.

ZHAO, P. Y.; KIM, I. H. Effect of direct-fed microbial on growth performance, nutrient digestibility, fecal noxious gas emission, fecal microbial flora and diarrhea score in weanling pigs. **Animal Feed Science and Technology**, v. 200, n. 1, p. 86–92, 2015.

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>