

### UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO PGCTA



#### DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS DO CONSUMO

#### PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE **ALIMENTOS**

#### AVALIAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE BLENDS DE EXTRATOS DE HIBISCO (Hibiscus sabdariffa) E DE BETERRABA VERMELHA (Beta vulgaris $L.~{ m ssp.}~{ m Vulgaris})~{ m MICROENCAPSULADOS~POR~SPRAY~DRYING}$

SÂMIA JOYCE LARANJEIRA SOARES

Recife

## UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS DO CONSUMO

## PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

#### SÂMIA JOYCE LARANJEIRA SOARES

# AVALIAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE BLENDS DE EXTRATOS DE HIBISCO (Hibiscus sabdariffa) E DE BETERRABA VERMELHA (Beta vulgaris L. ssp. Vulgaris) MICROENCAPSULADOS POR SPRAY DRYING

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito para obtenção do Grau de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

ORIENTADORA: Dra. Maria Inês Sucupira Maciel

CO-ORIENTADORA: Dra. Daniele Silva Ribeiro

Recife

2022

#### Dados Internacionais de Catalogação na Publicação Universidade Federal Rural de Pernambuco Sistema Integrado de Bibliotecas Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S676a Soares, Sâmia Joyce

ÁVALIAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE BLENDS DE EXTRATOS DE HIBISCO (Hibiscus sabdariffa) E DE BETERRABA VERMELHA (Beta vulgaris L. ssp. Vulgaris) MICROENCAPSULADOS POR SPRAY DRYING / Sâmia Joyce Soares. - 2022.

89 f.: il.

Orientadora: Maria Ines Sucupira Maciel. Coorientadora: Daniele Silva Ribeiro. Inclui referências.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Recife, 2024.

1. Pigmentos naturais. 2. Estabilidade. 3. Copigmentação. 4. Secagem por atomização . I. Maciel, Maria Ines Sucupira, orient. II. Ribeiro, Daniele Silva, coorient. III. Título

CDD 664

# UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS DOMÉSTICAS PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

# AVALIAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE *BLENDS* DE EXTRATOS DE HIBISCO (*Hibiscus sabdariffa*) E DE BETERRABA VERMELHA (*Beta vulgaris L. ssp. Vulgaris*) MICROENCAPSULADOS POR SPRAY DRYING

#### POR SÂMIA JOYCE LARANJEIRA SOARES

Esta dissertação foi julgada para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos e aprovada em \_\_/\_\_/\_ pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimento em sua forma final.

Banca Examinadora:
Prof. <sup>a</sup> Dr. <sup>a</sup> Suzana Pedroza da Silva Universidade Federal do Agreste de Pernambuco – UFAPE
Prof. Dr. Caio Monteiro Veríssimo Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE
Dr.ª Milena Fernandes da Silva

Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste - CETENE/ MCTI

As pessoas a quem mais amo e me apoiaram durante toda essa minha jornada, meus pais Socorro e João da Cruz, que nunca mediram esforços para proporcionar meu desenvolvimento profissional e pessoal.

À todos os familiares e amigos que se fizeram presentes durante essa etapa da minha vida, e que sempre acreditaram na minha capacidade.

#### **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente ao meu bom Deus por me permitir dar mais um passo em minha carreira profissional, pela sabedoria concedida para enfrentar as intempéries da vida e por nunca me desamparar e deixar desistir.

Aos meus pais Socorro Laranjeira e João da Cruz e meu irmão Samir, por sempre me incentivarem a realizar este mestrado, me apoiaram incondicionalmente e acreditaram na minha capacidade, mostrando a mim que Deus tem um propósito para tudo, mesmo quando desanimei. Ao meu namorado Thiago Farias pelo apoio, incentivo e sabedoria para aguentar as minhas crises durante todo o processo desde as etapas de seleção até a conclusão do mestrado.

A minhas orientadora e co-orientadora, Maria Inês Sucupira e Daniele Silva Ribeiro, por me darem todo suporte, apoio, carinho e incentivo, contribuindo da melhor maneria para a execução deste trabalho, mesmo frente as dificuldades devido a pandemia da COVID 19. Agradeço por terem lutado junto a mim nesse mestrado, e a toda sabedoria passada para enfrentar os problemas tanto pessoais como acadêmicos, eu não teria chegado ao fim deste trabalho, se não fosse o apoia destas mulheres incríveis.

Aos meus amigos e companheiros de laboratório Marcony, Vitória, Thaís e Eduardo, que me apoiaram e me mostraram por onde tentar fazer quando tudo dava errado. Vocês foram essenciais para a conclusão deste trabalho. Ao técnico de laboratório José Carlos, por ser sempre tão prestativo, ajudando sempre que possível e pela sua amizade.

Aos professores do curso de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da UFRPE, pelas contribuições no meu desenvolvimento acadêmico, como também a todos os professores da banca examinadora, pelas contribuições e correções na dissertação.

Por fim, agradeço a CAPES pelo apoio financeiro com a bolsa de estudos durante a realização do mestrado e a UFRPE por me conceder a oportunidade de obter o título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

#### **RESUMO**

As antocianinas e betalaínas são pigmentos naturais solúveis em água, que apresentam coloração vermelha e são amplamente encontrados na natureza. Ambos, tem a utilização como corantes alimentícios naturais dificultada devido à baixa estabilidade frente as condições de processamento de alimentos, como pH, luz, temperatura e presença de oxigênio. Porém, o fato das antocianinas serem pertencentes a classe dos flavonoides, se utilizadas em conjunto com as betalaínas podem promover a obtenção de pigmentos naturais vermelhos mais estáveis. Além disso, a utilização de técnica de microencapsulação, promove aumento da estabilidade destes compostos, bem como facilita o manuseio dos mesmos durante o uso. Neste sentido, o presente estudo teve como objetivo avaliar e caracterizar blends de extratos de antocianinas de hibisco e de betalaínas de beterraba vermelha microencapsulados por spray drying. Os extratos concentrados de antocianinas de hibisco (ECAH) e de betalaínas de beterraba vermelha (ECBB) foram obtidos por extração hidroalcoólica (etanol 70%) e caracterizados juntamente com os blends (A: 25% ECAH + 75% ECBB; B: 50% ECAH + 50% ECBB; C: 75% ECAH + 25% ECBB), em relação a sólidos solúveis, umidade, pH, acidez total titulável, cor. Além disso, foram realizadas quantificações dos compostos bioativos (antocianinas, betalaínas e compostos fenólicos) e verificadas as atividades antioxidantes por DPPH• e FRAP. O extrato concentrado de betalaínas de beterraba apresentou teor de betalaínas de 56,734 mg/100 g de matéria seca, enquanto os blends apresentaram teores entre 14,889 e 25,663 mg/100 g. O extrato concentrado de antocianinas de hibisco apresentou teor de antocianinas de 154,075 mg cianidina-3-glicosídeo/100 g de matéria seca, já os blends apresentaram teores variando entre 23,579 e 123,516 mg cianidina-3-glicosídeo/100 g de matéria seca. Em relação aos compostos fenólicos o ECAH e o ECBB, apresentaram conteúdo de 218,934 e 82,184 mg EAG/g de matéria seca, respectivamente. O conteúdo de compostos fenólicos dos blends variou de 115,632 a 209,991 mg EAG/g de matéria seca. Tanto os extratos como os blends apresentaram coloração vermelho-púrpura intenso. Quanto às microcápsulas obtidas pela microencapsulação, pelo método de secagem por pulverização (spray drying) dos blends A, B e C, as partículas apresentaram umidade (3,080; 4,150; 4,257) e atividade de água (0,165; 0,186; 0,166) capazes de garantir uma boa estabilidade durante armazenamento. Apresentaram também baixa higroscopicidade (<15%), relativamente solúveis em água e com altos tempos de molhabilidade, devido à influência da maltodextrina 10 DE. A cor das microcápsulas apresentou tonalidade vermelho-purpura brilhante, contudo quando reconstituídas deram origem a soluções de cor vermelho-purpura intenso, superior aos blends puros, além disso, tanto nos blends como nas microcápsulas foi possível inferir a ocorrência de uma possível copigmentação das antocianinas por ação das betalaínas. Ademais, as microcápsulas dos blends apresentaram ótimos percentuais de retenção de antocianinas (80,438 – 109,834%) e de betalaínas (betacianinas: 61,015 – 114,113%; betaxantinas: 128,110 – 166,520%), bem como ótimas eficiências de encapsulamento de compostos fenólicos (90,801 – 92,117%), demostrando assim que microcápsulas de blends de antocianinas de hibisco e betalaínas de beterraba apresentam características viáveis para aplicação como corantes naturais.

**Palavras** – **chaves:** pigmentos naturais; estabilidade; copigmentação; secagem por atomização.

#### **ABSTRACT**

Anthocyanins and betalains are water-soluble natural pigments that are red in color and are widely found in nature. Both have their use as natural food coloring difficult due to their low stability under food processing conditions, such as pH, light, temperature and the presence of oxygen. However, the fact that anthocyanins belong to the class of flavonoids, if used together with betalains, can promote the attainment of more stable natural red pigments. In addition, the use of microencapsulation technique promotes increased stability of these compounds, as well as facilitates their handling during use. In this sense, the present study aimed to evaluate and characterize blends of extracts of hibiscus anthocyanins and red beet betalains microencapsulated by spray drying. The concentrated extracts of hibiscus anthocyanins (ECAH) and red beet betalains (ECBB) were obtained by hydroalcoholic extraction (70% ethanol) and characterized together with the blends (A: 25% ECAH + 75% ECBB; B: 50% ECAH + 50% ECBB; C: 75% ECAH + 25% ECBB), in relation to soluble solids, moisture, pH, total titratable acidity, color. In addition, quantifications of bioactive compounds (anthocyanins, betalains and phenolic compounds) were performed and the antioxidant activities by DPPH• and FRAP were verified. The concentrated extract of beet betalains showed a betalain content of 56.734 mg/100 g of dry matter, while the blends presented levels between 14.889 and 25.663 mg/100 g. The concentrated extract of anthocyanins of hibiscus showed anthocyanin content of 154.075 mg cyanidin-3-glycoside/100 g of dry matter, while the blends presented contents varying between 23.579 and 123.516 mg cyanidin-3glycoside/100 g of dry matter. In relation to phenolic compounds, ECAH and ECBB, presented content of 218.934 and 82.184 mg EAG/g of dry matter, respectively. The content of phenolic compounds in the blends ranged from 115.632 to 209.991 mg EAG/g of dry matter. Both extracts and blends showed an intense red-purple color. As for the microcapsules obtained by microencapsulation, by the spray drying method (spray drying) of blends A, B and C, the particles showed moisture (3.080; 4.150; 4.257) and water activity (0.165; 0.186; 0.166) capable of guaranteeing good stability during storage. They also showed low hygroscopicity (<15%), relatively soluble in water and with high wetting times, due to the influence of maltodextrin 10 DE. The color of the microcapsules showed a bright red-purple hue, however when reconstituted they gave rise to solutions with an intense red-purple color, superior to the pure blends, in addition, both in the blends and in the microcapsules it was possible to infer the occurrence of a possible copigmentation of anthocyanins by the action of betalains. Furthermore, the microcapsules of the blends showed excellent percentages of retention of anthocyanins (80.438 -109.834%) and betalains (betacyanins: 61.015 - 114.113%; betaxanthins: 128.110 -166.520%), as well as excellent encapsulation efficiencies of phenolic compounds (90.801 - 92.117%), thus demonstrating that microcapsules of blends of hibiscus anthocyanins and beet betalains have viable characteristics for application as natural dyes.

Keywords: natural pigments; stability; copigmentation; spray drying.

#### LISTAS DE FIGURAS

Figura 1. Faixa de cores e estruturas químicas de diferentes pigmentos naturais 21
Figura 2. Estrutura da antocianidina
Figura 3. Faixa de cores visíveis de antocianidinas comuns
Figura 4. Cálices de Hibiscus sabdariffa
Figura 5. (a) Estrutura do Ácido betalâmico; (b) estrutura geral das betacianinas; e (c)
estrutura geral das betaxantinas
Figura 6. Interações de copigmentação
Figura 7. Diferença morfológica entre microcápsulas e microesferas35
Figura 8. Processo de spray drying
Figura 9. Correlação pH e percentual de ECAH (Extrato concentrado de antocianinas de
hibisco) nos blends
Figura 10. (A) Correlação do teor de ECAH (Extrato concentrado de antocianinas de
hibisco) e acidez nos blends, (B) Correlação pH e acidez dos blends46
Figura 11. Tonalidades dos extratos e blends de antocianinas de hibisco e betalaínas de
beterraba
Figura 12. Intensidade das cores dos extratos e blends de antocianinas de hibisco e
betalaínas de beterraba
Figura 13. Correlação entre percentual (%) de ECBB (extrato concentrado de betalaínas
de beterraba) e teor de betalaínas nos blends
Figura 14. Correlação entre percentual de ECAH e teor de antocianinas nos blends 53
Figura 15. Correlação dos conteúdos de antocianinas e TPC dos blends
Figura 16. Correlação entre atividade antioxidade FRAP e teor de antocianinas dos blends
56
Figura 17. Blend's de antocianinas de hibisco e betalaínas de beterraba solubilizados em
água destilada
Figura 18. Cor das microcápsulas em pó e reconstituídas
Figura 19. Cor dos pós solubilizados após 5 horas a 105 °C
Figura 20. Microscopia dos blends de extratos concentrados de antocianinas de hibisco e
betalaínas de beterraba microencapsulados por spray dryer utilizando maltodextrina como
agente encapsulante

#### LISTAS DE TABELAS

Tabela 1. Formulações dos Blend's de antocianinas de hibisco (ECAH) e betalaínas	de
beterraba (ECBB)	. 39
Tabela 2. Caracterização físico-química dos extratos e blend's de antocianinas de hibi	isco
e betalaínas de beterraba	. 45
Tabela 3. Análise de cor dos extratos e blends de antocianinas de hibisco e betalaínas	s de
beterraba.	. 48
Tabela 4. Teor de betalaínas, antocianinas e compostos fenólicos dos extratos e ble	nds
	.51
Tabela 5. Atividade antioxidante dos extratos e blends de antocianinas de hibisc	юе
betalaínas de beterraba, por meio dos ensaios DPPH• e FRAP	. 54
Tabela 6. Propriedades físico-químicas e físicas das microcápsulas dos blends	de
antocianinas de hibisco e betalaínas de beterraba	. 57
Tabela 7. Análise de cor das microcápsulas em pó	. 64
Tabela 8. Propriedades funcionais das microcápsulas	. 68

#### **SUMÁRIO**

1 INTRODUÇÃO	14
2 PROBLEMA DE PESQUISA E HIPÓTESE	16
3 OBJETIVOS	17
3.1 Objetivo Geral	17
3.2 Objetivos Específicos	17
4 REVISÃO DE LITERATURA	18
4.1 Corantes Alimentícios Naturais	18
4.2 Pigmentos de origem vegetal	20
4.2.1 Antocianinas: características, estabilidade e bioatividade	21
4.2.2 Betalaínas: características, estabilidade e bioatividade	26
4.3 Copigmentação e a estabilidade de pigmentos naturais	30
4.4 Microencapsulação por secagem por atomização (spray dryer)	33
5. MATERIAL E MÉTODOS	38
5.1 Produção de blends de betalaínas de beterraba e antocianinas de hibisco	.38
5.1.1 Obtenção do extrato concentrado de antocianinas do hibisco (ECAH)	.38
5.1.2 Obtenção do extrato concentrado de betalaínas de beterraba (ECBB)	.38
5.1.3 Formulação dos Blends	39
5.2 Caracterização físico-química individual e dos blends de extratos de antocianin	nas
de hibisco e betalaínas de beterraba	.39
5.2.1 Sólidos Solúveis Totais	39
5.2.2 Umidade	39
5.2.3 pH	.39
5.2.4 Acidez titulável	40
5.3 Cor instrumental dos extratos e blends	40
5.4 Caracterização dos compostos bioativos dos extratos e blends	40
5.4.1 Teor de betalaínas	40

5.4.2 Teor de antocianinas totais
5.4.3 Quantificação de compostos fenólicos
5.5 Análise do potencial antioxidante dos blends e extratos individuais
5.5.1 Método DPPH (2,2- difenil-1-picril-hidrazil)
5.5.2 Método FRAP (poder antioxidante de redução do ferro)
5.6 Microencapsulação de blends de antocianinas de hibisco e betalaínas de beterraba
por spray-dryer42
5.7 Caracterização dos blends de antocianinas de hibisco e betalaínas de beterraba,
microencapsulados por spray dryer
5.7.1 Umidade
5.7.2 Atividade de água
5.7.3 Higroscopicidade
5.7.4 Molhabilidade
5.7.5 Solubilidade
5.7.6 Cor instrumental das microcápsulas
5.7.7 Morfologia das partículas (MEV)
5.8 Propriedades funcionais das microcápsulas
5.8.1 Retenção de betalaínas e antocianinas
5.8.2 Eficiência de encapsulamento por meio do teor de compostos fenólicos 44
5.9 Análise Estatística
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO
6.1 Caracterização fisico-química dos extratos e blends de antocianinas de hibisco e
betalaínas de beterraba45
6.2 Colorimetria dos extratos e blends
6.3 Caracterização dos compostos bioativos nos extratos e blends de antocianinas de
hibisco e betalaínas de beterraba
6.4 Atividade antioxidante por DPPH e FRAP nos extratos e blends de antocianinas
de hibisco e betalaínas de beterraba

6.5 Caracterização das microcápsulas dos blends de antocianinas de hib	oisco e
betalaínas de beterraba	56
6.5.1 Propriedades físico-químicas e físicas das microcápsulas	56
6.5.1.1 Umidade e atividade de água	57
6.5.1.2 Higroscopicidade	58
6.5.1.3 Molhabilidade	59
6.5.1.4 Solubilidade	59
6.5.2 Análise da cor das microcápsulas	61
6.5.3 Morfologia das partículas	66
6.6 Propriedades funcionais das microcápsulas	68
6.6.1 Retenção de antocianinas	68
6.6.2 Retenção de betacianinas e betaxantinas	69
6.6.3 Eficiência de encapsulamento pelo teor de compostos fenólicos	70
7 CONCLUSÃO	71
REFERÊNCIAS	73

#### 1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, a produção de alimentos seguros, saudáveis, nutritivos, de qualidade e que sejam capazes de atrair o consumidor, acarretou no aumento do uso de corantes alimentícios. Visto que a cor é considerada um indicador de qualidade dos produtos e, frente a preocupação ao uso de corantes sintéticos, que estão cada vez mais relacionados a danos tanto ao meio ambiente como a saúde publica, tem impulsionado o interesse na utilização de corantes alimentícios obtidos de fontes naturais (Gençdağ *et al.*, 2022; Silva *et al.*, 2020).

Frutas e hortaliças são os principais alimentos que possuem pigmentos naturais, sendo os quatro principais: clorofilas, carotenóides, antocianinas e betalaínas. Estes pigmentos podem ser capazes de fornecer uma ampla gama de cores, com as vantagens de serem inócuos e promoverem efeitos benéficos a saúde. Contudo, frente a alta estabilidade e o baixo custo de corantes sintéticos, os corantes naturais tem sua utilização limitada pela indústria, dado que os mesmos são sensíveis a diversos fatores extrínsecos e intrínsecos, que podem levar a perca de cor ou alterações na tonalidade (Pinela *et al.*, 2019; Rodriguez-Amaya, 2016; Sigurdson *et al.*, 2017). Por outro lado, a crescente busca do mercado por pigmentos naturais, bem como o desenvolvimento de produtos alimentícios que contenham tais pigmentos em substituição de seus análogos sintéticos, vem impulsionando pesquisadores a investigarem a estabilidade desses corantes em matrizes alimentícias (Lima *et al.*, 2019).

Antocianinas e betalaínas são pigmentos naturais vermelhos que se destacam por apresentarem solubilidade em água, com as antocianinas exibindo cores como azul, roxo, vermelho e laranja, e as betalaínas exibindo as cores amarelo, vermelho e roxo. Esses pigmentos promovem grande interesse na indústria alimentícia, uma vez que, além de serem capazes de fornecer cores atrativas aos alimentos, também apresentam benefícios a saúde devido a sua atividade antioxidante que promove a proteção do organismo contra danos oxidativos, prevenindo doenças como câncer, doenças cardiovasculares e diabetes (Elias, 2018; Lima *et al.*, 2019; Olatunya & Akintayo, 2017; Righi Pessoa da Silva *et al.*, 2018).

O hibisco (*Hibiscus sabdariffa*) é uma planta da família *Malvaceae* que vem sendo alvo de grande interesse científico devido seus perfis químicos promissores que contribuem para a produção de alimentos e fármacos bioativos, além disso por seus

cálices apresentarem cor vermelha pela presença do pigmento das antocianinas, diferentes setores industriais estão buscando recuperar este pigmento para uso como corante (Marques Mandaji *et al.*, 2022; Pinela *et al.*, 2019). Já a beterraba vermelha (*Beta vulgaris* L.), é uma hortaliça considerada como excelente fonte de fitoquímicos que proporcionam benefícios a saúde humana, apresentando sua capacidade antioxidante essencialmente relacionada ao alto conteúdo de compostos fenólicos e betalaínas (Cardoso-Ugarte *et al.*, 2014; Mancini *et al.*, 2021; Silva *et al.*, 2020). Tanto as antocianinas, quanto as betalaínas tem suas estabilidades afetadas por condições de processamento e armazenamento de alimentos (Gençdağ *et al.*, 2022; Sigurdson *et al.*, 2017). Com isso, o uso de métodos que melhorem a estabilidade destes pigmentos, como copigmentação e encapsulação são de grande importância, uma vez que promovem a manutenção dos mesmos durante sua obtenção e armazenamento (Rodriguez-Amaya, 2019).

A copigmentação é um método utilizado visando a formação de complexos copigmentados em produtos alimentícios, promovendo assim melhora na aparência, na cor e nos possíveis benefícios a saúde (Tan *et al.*, 2021). No caso dos métodos de encapsulação de pigmentos, estes são uma boa estratégia para desenvolvimento de corantes naturais a partir de betalaínas e antocianinas, uma vez que promove aumento da estabilidade e biodisponibilidade de compostos bioativos, além de controlar a liberação do agente ativo e melhorar as condições de manuseio durante o processamento (Mahdi *et al.*, 2020; Rodriguez-Amaya, 2019). Dentre os métodos mais utilizados tem-se, o método físico de secagem por pulverização (*spray-drying*), processo que ocorre de modo contínuo, e que além de possuir baixo custo, produz partículas secas em pouco tempo e com alta qualidade (Mahdi *et al.*, 2020; Ozkan *et al.*, 2019).

Diante do exposto, o objetivo do presente trabalho é obter blends de extratos de antocianinas de hibisco e de betalaínas de beterraba vermelha, de maneira a propiciar a associação entre estes pigmentos, bem como encapsular os mesmos por meio de secagem por pulverização (*spray-drying*), visando obter microcápsulas que promovam a estabilidade da cor e dos compostos bioativos presentes nos extratos, para ampliar a aplicação dos pigmentos de antocianinas e betalaínas como corantes alimentícios.

#### 2 PROBLEMA DE PESQUISA E HIPÓTESE

Na formação de blends de extratos de hibisco e beterraba, a interação entre as antocianinas presentes no hibisco e as betalaínas presentes na beterraba e os compostos fenólicos, pode levar ao aumento da estabilidade dos pigmentos, favorecendo a estabilidade dos mesmos. Além disso, a microencapsulação dos blends poderá promover a proteção dos pigmentos, de maneira que a temperatura não venha a afetar drasticamente nas propriedades funcionais dos extratos e tecnológica dos pós obtidos. Logo, a presente pesquisa indaga-se: a formulação de blends de extratos de hibisco e beterraba, assim como a técnica de encapsulação, conseguirão aumentar o teor dos compostos bioativos, a capacidade antioxidante e a manutenção da cor, presentes nos extratos de hibisco e de beterraba?

H0: a formulação de blends, bem como a encapsulação dos mesmos não levará à manutenção ou ao aumento dos compostos bioativos presentes, e não promoverá a manutenção da cor.

H1: a formulação de blends, bem como a encapsulação dos mesmos levará à manutenção ou ao aumento dos compostos bioativos presentes, além de promover a manutenção da cor.

#### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo Geral

Avaliar e caracterizar blends de extratos de antocianinas de hibisco e de betalaínas de beterraba vermelha microencapsulados por spray drying.

#### 3.2 Objetivos Específicos

- Obter extratos concentrados dos pigmentos de hibisco e beterraba vermelha por extração hidroalcóolica;
- Formular e caracterizar físico e quimicamente os blends dos extratos concentrados de hibisco e beterraba vermelha;
- Avaliar o conteúdo de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante por diferentes métodos (DPPH e FRAP) nos blends dos extratos;
- Quantificar o teor dos pigmentos antocianinas e betalaínas nos blends dos extratos;
- Microencapsular os blends pelo método de secagem por atomização (spray dryer);
- Caracterizar físico e quimicamente as microcápsulas;
- Avaliar a eficiência do encapsulamento.

#### 4 REVISÃO DE LITERATURA

#### 4.1 Corantes Alimentícios Naturais

Nos alimentos a cor é considerada um aspecto sensorial essencial, por desempenhar papel relevante na aceitabilidade de um produto alimentício, já que a cor dos alimentos costuma estar associada ao frescor, segurança e valor nutricional do produto, além de poder estimular ou suprimir o apetite do consumidor (Ghosh *et al.*, 2022; Gukowsky *et al.*, 2018; Lombardelli *et al.*, 2021). Com isso, o uso de corantes na indústria alimentícia tem como principais objetivos: melhorar a aparência dos alimentos promovendo uniformidade de cor; realçar a cor natural da matéria-prima ou restituir a perda da cor durante processamento (sobretudo quando se é utilizado calor) e atribuir identidade de cor/sabor a alimentos incolores (Ngamwonglumlert *et al.*, 2017).

Considerados aditivos alimentares responsáveis por melhorar a qualidade e aparência dos alimentos, os corantes alimentícios são definidos de acordo com a Food and Drug Administration (FDA), como "qualquer corante, pigmento ou substância que, quando adicionado ou aplicado a alimentos, medicamentos, cosméticos, ou ao corpo humano, é capaz (sozinho ou por meio de reações com outras substâncias) de conferir cor" (Sun *et al.*, 2021). De acordo com a origem os corantes alimentícios são classificados em: naturais, idênticos aos naturais e sintéticos (Janiszewska-Turak *et al.*, 2017).

Os corantes naturais são derivados de fontes vegetais, animais, microrganismos e minerais, e seu uso era a única forma no passado de tornar os alimentos mais atraentes, sendo a coloração obtida por meio de temperos e outras matérias primas coloridas, como flores, madeiras e minerais. A utilização destas fontes é datada desde os antigos Egípcios que utilizavam as mesmas para colorir doces, sendo que até meados do século XIX a única forma disponível de promover cor aos alimentos, era através do uso de populares corantes de origem vegetal como o açafrão, a páprica, o extrato de beterraba e pétalas de flores, e de origem animal o ácido carmínico laranja-vermelho dos insetos da cochonilha (*Dactylopius coccus*) e a tinta de lula ( Stich, 2016; Janiszewska-Turak *et al.*, 2017).

No Brasil, de acordo com a Resolução nº 44 de 1977 (BRASIL, 1977), os corantes naturais liberados para uso em alimentos são: curcumina, riboflavina, ácido carmínico (cochonilha), urzela, orceína, orecína sulfonada, clorofila, caramelo, carvão medicinal, carotenoides (alfa, beta, e gamacaroteno; bixina, norbixina; capsantina, capsorubina; licopeno), xantofilas (flavoxantina, luteína; criptoxantina; rubixantina; violaxantina; rodoxantina; cantaxantina), vermelho de beterraba (betanina) e antocianinas (pelargonidina; cianidina; peonidina; delfinidina; petunidina; malvidina).

Os corantes sintéticos por sua vez, são produtos da síntese química e tem o início das suas fabricações datado no final do século XIX, juntamente com o desenvolvimento das indústrias químicas, sendo originalmente obtidos a partir do alcatrão de hulha e apresentando em sua maioria um grupo azo, que contribui na coloração e solubilidade dos corantes (Corradini, 2018; Janiszewska-Turak *et al.*, 2017; Vinha *et al.*, 2018). Os corantes sintéticos são utilizados numa vasta gama de alimentos e bebidas que se encontram disponíveis no mercado, porém um grande número destes foram banidos, por não serem considerados seguros para o consumo, uma vez que estudos comprovam que o uso dos mesmos pode causar sinais de toxicidade a curto e longo prazo, como também podem induzir o surgimento de graves problemas de saúde, como baixa concentração de hemoglobina, reações alérgicas, mutações, cânceres, irritabilidade, inquietação, distúrbios do sono, apresentar efeitos no fígado, rins e intestino, efeitos hiperativos em crianças, infecções de ouvido, asma e eczemas (Freitas-Sá *et al.*, 2018; Martins *et al.*, 2016). Porém, mesmo assim atualmente ainda existem alimentos e bebidas que podem conter corantes sintéticos não permitidos ou com uso demasiado dos permitidos que também não é considerado seguro (Dilrukshi *et al.*, 2019).

Há alguns anos a indústria alimentícia, em razão da preocupação dos consumidores, principalmente em relação ao consumo de corantes sintéticos e seus malefícios, vem buscando cada vez mais fazer o uso de corantes naturais na formulação dos alimentos, já que estes diferente dos sintéticos, podem trazer qualidade de vida e benefícios a saúde (Martins *et al.*, 2016). Contudo, os corantes naturais disponíveis no mercado ainda são poucos e, além disso, apresentam uso limitado em razão da sua baixa estabilidade química, o que os tornam sensíveis a variações de pH, calor, condições de processamento, oxidação e exposição a luz, além de menor capacidade de colorir e maior interação com os outros ingredientes alimentares, quando comparados aos corantes sintéticos, fazendo ser necessário escolher um método capaz de obter um corante eficaz (Galaffu *et al.*, 2015; Landim Neves *et al.*, 2021).

O método mais frequente de obtenção de corantes naturais é através da extração de pigmentos no sistema sólido-líquido (folhas, raízes etc.), em solventes como o etanol e a acetona, por exemplo. Neste tipo de extração o solvente selecionado irá separar o pigmento ou a substância indesejada, em seguida, é realizada a separação das fases sólida e líquida por meio de filtração ou decantação. Porém, atualmente, existem várias tecnologias disponíveis para melhorar a extração, incluindo ultrassons, micro-ondas, campos elétricos pulsados e fluidos pressurizados e supercríticos (Janiszewska-Turak *et al.*, 2017; Pinela *et al.*, 2019).

Quanto a classificação dos corantes naturais, esta chega a ser muito complexa devido à grande variedade de propriedades inerentes das substâncias corantes. Uma vez que, os corantes

naturais podem ser derivados de diversas fontes na natureza, os mesmos apresentam uma grande variedade de composições químicas que afetam suas propriedades, solubilidades e estabilidades de formas diferentes, e estas consequentemente afetam suas aplicações potenciais em certas matrizes e também desempenham um papel na regulamentação dos diferentes pigmentos (Sigurdson *et al.*, 2017). As fontes presentes na natureza incluem, plantas, insetos (cochonilha e laca), animais (molusco, caracol murex, marisco), fungos (*Blakeslea trispora* e *Monascus spp.*), Cianobactérias (*Arthrospira spp.*), e até minerais (como argila, ocre e malaquita). A partir destas fontes, são obtidos pigmentos como clorofilas, carotenóides (carotenos, xantofilas), betalaínas (betaxantina, betacianina) e flavonóides (chalconas, antocianinas, flavonóis) (Vinha *et al.*, 2018).

#### 4.2 Pigmentos de origem vegetal

Os vegetais são alimentos naturalmente coloridos por pigmentos, que são moléculas ou compostos químicos capazes de absorver comprimentos de onda de luz específicos e refleti-los. A classificação dos pigmentos vegetais é baseada em sua estrutura química e organizada em quatro categorias: clorofilas (verdes), carotenoides (amarelo-laranja-vermelho), antocianinas (roxo, azul e vermelho) e betalaínas (vermelho – amarelo), estes são abundantes na natureza e desempenham papéis importantes nas vias fotossintéticas, além de terem a capacidade de atrair polinizadores e fornecer proteção contra predadores e energia solar. (Rodriguez-Amaya, 2016; Sigurdson *et al.*, 2017). Na Figura 1 é possível visualizar as diferentes estruturas, espectro de cores e algumas fontes referentes de cada pigmento vegetal.

Os pigmentos de origem vegetal, são compostos que possuem forte atividade antioxidante, de modo a conseguirem neutralizar ou até mesmo eliminar radicais livres de oxigênio e nitrogênio, promovendo proteção contra muitas doenças que acometem os seres humanos (Sharma & Kaushik, 2021). Estudos *in vitro* e em animais revelam que os pigmentos naturais de origem vegetal (clorofilas, carotenoides, antocianinas e betalaínas), possuem alta capacidade antioxidante, sendo eficientes na redução dos riscos de doenças cardiovasculares, doenças crônicas do fígado, obesidade, diabetes, câncer, doenças neurodegenerativas, além de apresentarem efeitos anti-inflamatórios e antimicrobianos (Anunciação *et al.*, 2019; Mejia *et al.*, 2020; Miranda *et al.*, 2021).

Carotenoides, antocianinas e betalaínas, são pigmentos vegetais que se destacam por possuírem a cor vermelha. Destes, apenas as antocianinas e betalaínas são solúveis em água, sendo estes quimicamente relacionados, entretanto as antocianinas apresentam as cores azul, roxo, vermelho e laranja, enquanto que as betalaínas exibem as cores amarelo, vermelho e roxo (Elias, 2018).

**Figura 1.** Faixa de cores e estruturas químicas de diferentes pigmentos naturais.

Fonte: Adaptado de Mejia et al., 2020.

#### 4.2.1 Antocianinas: características, estabilidade e bioatividade

As antocianinas são pigmentos hidrossolúveis capazes de conferir coloração azul, roxa e vermelha para diversas partes das plantas, principalmente frutos e flores, sendo a intensidade da cor destas proporcional ao teor de antocianinas, que geralmente aumenta durante a maturação de frutas e hortaliças, proporcionando aumento da intensidade de cor. Além disso, o conteúdo de antocianinas nas flores, frutas e hortaliças é influenciado diretamente pela cultivar/variedade, práticas de cultivo, área de cultivo, estação/clima, processamento e armazenamento. As antocianinas pertencem à classe dos polifenóis conhecidos por flavonoides, e são pigmentos dissolvidos na seiva celular das plantas, sendo produzidos na presença de luz, pela reação entre proteína e açúcar na seiva celular (Bendokas *et al.*, 2020; Muhamad *et al.*, 2018; Rajan *et al.*, 2018; Rodriguez-Amaya, 2019).

As antocianinas são glicosídeos ou acilglicosídeos de antocianidinas, que tem sua estrutura composta por dois anéis aromáticos ligados a um anel heterocíclico de três carbonos que contem oxigênio (Figura 2), que tem a capacidade de apresentar um espectro de cores que vão desde o vermelho em pH ácido, até o violeta e azul em pH básico. Atualmente na natureza existe uma enorme variedade de antocianinas (mais de 600), tornando assim as mesmas em um grupo muito

complexo e interessante. Até agora, existem cerca de 20 tipos de antocianidinas, pelas quais apenas seis delas são mais comumente encontradas em plantas comestíveis (Figura 3): cianidina, delfinidina, petunidina, peonidina, pelargonidina e malvidina, estas encontram-se 80% em folhas pigmentadas, 69% em frutos e 50% em flores (Fernández-López et al., 2020; Rodriguez-Amaya, 2019).

A estrutura destas antocianinas são comumente ligadas a uma molécula de sacarídeo, como glicose, galactose, arabinose, ramnose ou rutinose, como 3-glicosídeos ou 3,5-diglicosídeos, porém os padrões estruturais vão diferir somente no número e no grau de hidroxilação e/ou metilação no anel B, de modo que, a hidroxilação tende a aumentar a coloração azul e diminuir a estabilidade, já a metilação tende a aumentar a coloração vermelha e aumentar a estabilidade, de forma a produzirem tons que vão do laranja avermelhado (pelargonidina) ao azul-violeta (delfinidina) (Fernández-López *et al.*, 2020; Galaffu *et al.*, 2015; Muhamad *et al.*, 2018; Rodriguez-Amaya, 2019).

Figura 2. Estrutura da antocianidina

$$R_{7}$$
 $R_{6}$ 
 $R_{5}$ 
 $R_{6}$ 
 $R_{7}$ 
 $R_{6}$ 
 $R_{7}$ 
 $R_{6}$ 
 $R_{7}$ 
 $R_{7}$ 
 $R_{8}$ 
 $R_{7}$ 
 $R_{8}$ 
 $R_{7}$ 
 $R_{8}$ 
 $R_{7}$ 
 $R_{8}$ 
 $R_{7}$ 
 $R_{8}$ 

Fonte: Adaptado de Ananga et al., 2013.

A busca da indústria alimentícia pelo uso de corantes naturais, frente aos benefícios a saúde que os mesmos podem proporcionar, tornam as antocianinas potenciais pigmentos para uso como corante alimentício. Contudo a estabilidade e a cor das antocianinas podem ser afetadas durante o processamento e armazenamento, devido a diversos fatores, como: estrutura química e concentração da antocianina, temperatura, pH, luz, oxigênio, enzimas, íons metálicos, outros flavonóides e fenólicos, ácido ascórbico, açúcares e sulfitos. Com isso, pesquisas vem sendo realizadas na busca por métodos que promovam a melhora da estabilidade das antocianinas, podendo assim expandir sua aplicação como corante alimentício (Fernández-López *et al.*, 2020; Muhamad *et al.*, 2018; Rodriguez-Amaya, 2019; Tarone *et al.*, 2020).

O pH é um dos fatores mais importantes na estabilidade das antocianinas, pois a depender deste, diferentes formas químicas de antocianinas são encontradas, originando diferentes colorações e estabilidades, de modo que, em solução aquosa de pH 1-3 apresentam coloração

vermelha e maior estabilidade, em pH 5 apresentam-se incolores, devido a formação da pseudo-base carbinol e chalcona, já em pH > 6 são convertidas em uma base quinoidal azul-púrpura, este incremento do pH reduz a estabilidade das antocianinas, promovendo maior degradação das mesmas (Fernández-López *et al.*, 2020; Rodriguez-Amaya, 2019).

Em matrizes alimentares, a estabilidade das antocianinas é reduzida com a temperatura, principalmente quando expostas a altas temperaturas por longo tempo, deste modo recomenda-se que para garantir uma maior estabilidade, quando se for necessário o uso de temperaturas elevadas (>100° C), recomenda-se reduzir o tempo de processamento e armazenar os produtos em baixas temperaturas, maximizando assim o teor de antocianinas (Muhamad *et al.*, 2018; Ngamwonglumlert *et al.*, 2017). O fato das antocianinas apresentarem ligações duplas em suas estruturas, tornam as mesmas susceptíveis ao oxigênio molecular, o que consequentemente pode acelerar a degradação das mesmas por oxidação direta ou indireta dos constituintes do meio que reagem com elas. O oxigênio tem a capacidade de degradar as antocianinas em qualquer valor de pH, na ausência ou na presença de luz, porém quando a luz é associada, o processo de degradação das antocianinas é intensificado (Fernández-López *et al.*, 2020; Rigolon *et al.*, 2021).

A estrutura química das antocianinas além de influenciar a estabilidade das mesmas, também exerce influência direta em sua capacidade antioxidante, de forma que a presença de grupos hidroxilas na posição 3 e 4 do anel B, atribuem as antocianinas tal propriedade que, assim como a presença de açúcares na molécula de antocianina, reduz sua capacidade antioxidante. Logo, o potencial antioxidante das antocianinas vai depender da estrutura da molécula, do número e da posição das hidroxilas e sua conjugação, bem como da presença de elétrons doadores no anel aromático da estrutura (SANTOS *et al.*, 2014).

**Figura 3.** Faixa de cores visíveis de antocianidinas comuns.

Fonte: Adaptado de Ananga et al., 2013

Um dos principais atributos dos pigmentos de antocianinas, é a sua alta atividade antioxidante, que proporciona o sequestro de radicais livres do meio. Devido a tal característica,

as antocianinas são capazes de promover benefícios a saúde devido aos seus efeitos terapêuticos, que têm associados a eles a redução de doenças crônicas de grande importância, como câncer, doenças cardíacas, diabetes, acidente vascular cerebral, catarata, doença de Alzheimer e deterioração das funções relacionadas à idade. Além disso, as antocianinas possuem outras atividades biológicas, com ações: antialérgicas, anti-inflamatórias, antivirais, antiproliferativas, antimicrobianas, antimutagênicas, antitumorais, promove a melhora da microcirculação e previne a fragilidade capilar periférica (Bendokas *et al.*, 2020; Fernández-López *et al.*, 2020; Muhamad *et al.*, 2018; Rodriguez-Amaya, 2019).

Os mecanismos de ação das antocianinas, envolvem efeitos na expressão de genes e proteínas, bem como interações com micro-RNAs e vias de sinalização celular. Sendo, os adipócitos, células endoteliais, células inflamatórias, hepatócitos e células intestinais, as possíveis células alvo das antocianinas (Duchowicz *et al.*, 2019). Em estudo realizado por Pacheco *et al.* (2018), com ratos machos adultos, o tratamento de antocianinas foi capaz de proteger contra déficits de memória, apresentando-se com potencial para o combate ao Alzheimer. Em estudo realizado por Li *et al.* (2019), em camundongos, observou-se que a pelargonidina apresenta potenciais efeitos anticâncer contra a transformação neoplásica, exercendo efeito citoprotetor. Já em estudo realizado por Han *et al.*, (2019), com ratos, foi possível observar que a delfinidina pode potencialmente suprimir a carcinogênese da mama e exercer seu efeito anticâncer. Com isso, é possível afirmar que a capacidade antioxidante das antocianinas está intimamente ligada aos benefícios à saúde promovidos pelo consumo de suas. Porém, estes benefícios irão depender de quais fontes estão sendo utilizadas, uma vez que, a absorção das antocianinas pelo organismo vai depender do tipo de antocianina ingerida.

As antocianinas são amplamente encontradas em plantas escuras, como frutas vermelhas, vegetais roxos e cereais pretos. Dentre as fontes de antocianinas têm-se as flores pigmentadas comestíveis vermelhas, azuis e roxas como: hibisco (*Hibiscus* spp.), rosa (*Rosa spp.*), sálvia (*Salvia elegans* Vahl), trevo vermelho (*Trifolium pratense* L.), flor de ameixa (*Prunus* spp.), centáurea (*Centaurea cyanus* L.), chicória azul (*Cichorium intybus* L.), alecrim azul (*Rosmarinus officinalis* L.), hortelã roxa [*Perilla crispa* (Thunb.) Tanaka], maracujá roxo (*Passiflora incarnata* L.), sálvia roxa [*Salvia dorrii* (Kellogg) Abrams], violeta comum (*Viola* spp.), lavanda (*Lavandula* spp.) e flor do trigo (*Triticum*). Outras fontes ricas em antocianinas são os vegetais folhosos, cereais, grãos, raízes e tubérculos de cor vermelha a azul-arroxeada, como a cenoura preta (*Daucus carota* ssp. *sativus* var. Atrorubens Alef.), berinjela (*Solanum melongena* L.), repolho roxo (*Brassica oleracea* L.), milho roxo (*Zea mays* var Ceratina) e batata roxa (*Solanum tuberosum* spp.). Com relação as frutas ricas em antocianinas pode-se citar as groselhas (*Ribes nigrum* L.),

jabuticaba (*Plinia cauliflora*), açaí (*Euterpe oleracea*), jambolão (*Syzygium cumini*), cereja (*Prunus avium*), ameixas (*Prunus* spp.), uvas (*Vitis vinifera* spp.), laranjas doces pigmentadas [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck.], romãs (*Punica granatum*) e sabugueiro (*Sambucus nigra* L.) (P. Li *et al.*, 2021; Muhamad *et al.*, 2018; Rigolon *et al.*, 2021).

Dentre as maiores fontes de antocianinas, tem-se o Hibisco (*Hibiscus* spp.), planta herbácea pertencente à família *Malvaceae*, amplamente cultivada nas regiões tropicais e subtropicais do mundo, como África Tropical, Ásia e América do Norte. Existem no mundo mais de 300 espécies de *Hibiscus* spp., sendo o *Hibiscus sabdariffa* a espécie mais cultivada, essa se destaca por sua cor vermelha profunda, aroma floral característico e sabor ácido único, tornando-o um dos produtos de origem botânica mais vendidos dentro do comércio internacional, sendo distribuídos para indústrias alimentícias, farmacêuticas e de cosméticos. O *Hibiscus sabdariffa* é rico em compostos bioativos como flavonoides (quercetina, luteolina, hibiscitrina, sabdaritrina, gossipitrina e gossitrina) e antocianinas (antocianidina, gossipicianina e hibiscina), ácidos orgânicos (ácido cítrico, ascórbico, oxálico, málico, tartárico, hibisco e ácido hidroxicítrico) e polissacarídeos (como glicose, arabinose, galactose e ramnose), que são responsáveis por conferir propriedades anti-hipertensivas, hepatoprotetoras, antilipêmicas, antidiabetes, imunomoduladoras, diuréticas, atividades antioxidante e anticancerígenas ao hibisco (de Moura *et al.*, 2018; Idham *et al.*, 2021; Maciel *et al.*, 2018; Monteiro *et al.*, 2017; Shafiee *et al.*, 2021).



Figura 4. Cálices de Hibiscus sabdariffa

Fonte: Google imagens

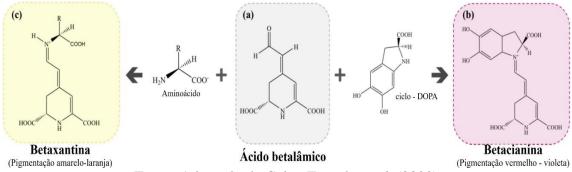
Os cálices do *Hibiscus sabdariffa* (Figura 4) é a parte da planta de maior interesse comercial, pois são utilizados na produção de compotas, sucos, chás, geleias, gelatinas, xaropes, vinhos, sorvetes, pudins e bolos. Estudos demonstram que extratos obtidos de cálices de hibisco, além de apresentarem benefícios a saúde, apresentam cor vermelha intensa, devido a presença de antocianinas, levando cientistas a se interessarem na exploração do uso desta planta para a obtenção de corantes naturais a serem aplicados na indústria alimentícia (Ifie *et al.*, 2018; Jabeur

et al., 2017). Quanto ao conteúdo de antocianinas no *Hibiscus sabdariffa*, há relatos de que os cálices apresentam concentração de 1,5 g/kg de matéria seca, sendo as principais antocianinas identificadas a delfinidina-3-glicosídeo, cianidina-3-glicosídeo, delfinidina-3-sambubiosídeo (hibiscina) e a cianidina-3-sambubiosídeo (gossipicianina), sendo a delfinidina 3-sambubiosídeo a principal responsável pela atividade antioxidante do extrato de hibisco (Kalla *et al.*, 2015; Pinela *et al.*, 2019; G. Riaz & Chopra, 2018).

#### 4.2.2 Betalaínas: características, estabilidade e bioatividade

Betalaínas são pigmentos naturais nitrogenados, hidrossolúveis, também conhecidos como cromoalcalóides. São metabólitos secundários presentes nas sementes, frutos, flores, folhas, caules e raízes de plantas pertencentes as famílias da ordem *Caryophyllales*, como *Amaranthaceae*, *Basellaceae*, *Cactaceae*, *Portulacaceae*, *Nyctaginaceae* e *Chenopodiaceae*. As betalaínas também podem ser encontradas em alguns fungos de alta ordem (Calva-Estrada et al., 2022; Carreón-Hidalgo et al., 2022; Moreno-Ley et al., 2021). O ácido betalâmico (ácido 4- (2- oxoetilideno) -1, 2, 3, 4- tetra-hidropiridina -2, 6- dicarboxílico) (Figura 5a), constitui a estrutura básica das betalaínas, esta quando condensada com o *ciclo*-DOPA (ciclo -3, 4- dihidroxifenilalanina) ou seus derivados, geram as betacianinas (Figura 5b), estruturas responsáveis pela coloração vermelhovioleta das plantas. Todavia, quando ocorre a condensação do ácido betalâmico com compostos amino (aminoácidos, aminas ou derivados), geram as betaxantinas, estruturas responsáveis pela coloração amarelo-laranja das plantas (Figura 5c). Porém, as cores encontradas nas plantas são produzidas de acordo com os tipos e proporções de betacianinas e betaxantinas das mesmas (Calva-Estrada *et al.*, 2022; Carreón-Hidalgo *et al.*, 2022; Coy-Barrera, 2020).

**Figura 5.** (a) Estrutura do Ácido betalâmico; (b) estrutura geral das betacianinas; e (c) estrutura geral das betaxantinas.



Fonte: Adaptado de Calva-Estrada et al. (2022)

As colorações das betalaínas são atribuídas a presença de ligações duplas ressonantes em suas estruturas. De modo que, quando ocorre a condensação da estrutura do ácido betalâmico com a estrutura *ciclo*-Dopa, a ressonância eletrônica é estendida ao anel aromático difenólico, com isso a absorção máxima da radiação eletromagnética de 480 nm (amarelo-laranja, betaxantinas) é

alterada para cerca de 540 nm (vermelho-violeta, betacianinas) (Constant & De Freitas, 2021; Delgado-Vargas *et al.*, 2000).

As betalaínas apresentam propriedades químicas, bem como funções biológicas e espectro de cores semelhantes as antocianinas, porém ambos os pigmentos são mutualmente exclusivos na natureza, nunca coexistindo em plantas. Vários mecanismos já foram propostos para explicar essa divergência, contudo encontra-se bem estabelecido o fato de que em plantas produtoras de betalaínas não há a presença de genes relevantes para a produção de antocianinas, do mesmo modo que em plantas produtoras de antocianinas não há a presença da 4,5-DOPA extradiol-dioxigenase (DODA), uma das enzimas-chave na via biossintética das betalaínas (Moreno-Ley *et al.*, 2021; Tossi *et al.*, 2021).

Estudos sobre betalaínas vem aumentando, promovendo assim um maior conhecimento sobre suas as propriedades, estruturas e biossíntese. As betalaínas, em especial as betacianinas, tornaram-se um grupo de compostos com grande potencial para o enriquecimento e suplementação de alimentos, uma vez que além das propriedades pigmentares e atividade antioxidante, apresentam propriedades hepatoprotetoras, antilipêmicas, e neuroprotetivas, além de diversos efeitos biológicos como anticancerígenos, anti-inflamatórios, quimiopreventivos, antibacterianos, exercendo também influência positiva em eventos gastrointestinais, cardiovasculares e metabólicos, tudo isto atrelado a outros benefícios como não gerar respostas alérgicas, não possuir toxicidade e nem efeitos mutagênicos (Calva-Estrada *et al.*, 2022; Castro-Enríquez *et al.*, 2020; Coy-Barrera, 2020).

Em estudo realizado por Rahimi *et al.* (2019), a suplementação com cápsulas produzidas com extratos de alimentos ricos em betalaínas, apresentou impacto em alguns fatores ateroscleróticos de pacientes com doença coronariana, durante fase aguda. De modo que, verificou-se que com a suplementação houve redução da pressão arterial sistólica e diastólica, além da redução significativa das concentrações de homocisteína, glicose, colesterol total, triglicerídeos e LDL. Farabegoli *et al.* (2017), verificaram que as betacianinas e betaxantinas, apresentaram a capacidade de reduzir os danos oxidativos em células de câncer de cólon CaCo-2. Em estudo *in vitro* e *in vivo* (em camundongos) realizado por Yin *et al.* (2021), as betalaínas foram responsáveis pelo manejo de células de câncer de pulmão, induzindo a parada do ciclo celular e a apoptose das células cancerígenas. Desta forma, os estudos evidenciam que as betalaínas podem ser utilizadas como possíveis agentes terapêuticos.

Quando comparadas as antocianinas, as betalaínas tem sido pouco exploradas, o que pode ser explicado pela presença limitada destas na natureza, onde foram identificadas cerca de 70

betalaínas, destas 50 são betacianinas (divididas em betanina, gonferina, amarantina e bunganvília) e 20 são betaxantinas (Castro-Enríquez et al., 2020; Constant & De Freitas, 2021). Existem poucas fontes comestíveis de betalaínas disponíveis na natureza, sendo as mais conhecidas a beterraba vermelha e amarela (*Beta vulgaris* L. spp. vulgaris), acelga colorida (*Beta vulgaris* L. spp. Cicla), amaranto granuloso e folhoso (*Amarathus* sp.), frutos de cactos dos gêneros *Opuntia* sp. e *Hylocereus* sp., como o *Opuntia ficus-indica* (figo da Índia) e o *Hylocereus polyrhizus* (pitaya). Porém, atualmente as betalaínas também são encontradas em fontes como tubérculos de *Ullucus tuberosus*, amoras (*Rivina humilis*), grãos de quinoa (*Chenopodium quinoa*), flores das espécies *Boungainvillea* sp. (buganvília), *Celosia argenta* L. (rabo de galo), *Portulaca grandiflora* Hook (onze horas), e em *Basella* alba (bertalha). A *Phytolacca* americana L. também é uma fonte potencial de betalaínas, porém não é utilizada como corante alimentar por conter saponinas e lectinas tóxicas. Além destas fontes, betalaínas podem ser encontradas em fungos das espécies, *Hygrocybe*, *Hygrophorus* e *Amanita muscaria* (Carreón-Hidalgo *et al.*, 2022; Coy-Barrera, 2020; Sadowska-Bartosz & Bartosz, 2021).

A beterraba vermelha (*Beta vulgaris* L. spp. vulgaris), hortaliça da família *Chenopodiaceae* teve sua origem na Ásia e na Europa, é uma planta herbácea de cultura bienal, ocasionalmente anual que é cultivada pelas suas raízes e folhas comestíveis em todo o mundo, que se apresentam como potenciais alimentos terapêuticos desde a época do Antigos Romanos. A beterraba é rica em compostos nutricionais e bioativos como vitaminas, minerais, carboidratos, nitrato, ácido ascórbico, fibras, proteínas, aminoácidos essenciais, fitoesteróis, alcalóides, esteroides, ácidos graxos, carotenoides e os pigmentos de betalaínas. Diante de sua riqueza nutricional, a beterraba (suco e extrato) tem apresentado inúmeras atividades bioativas que incluem atividade antioxidante, anti-stress, anti-ansiedade, anti-hipertensivo, anti-inflamatório, antidiabético, anticancerígeno, anti-obesidade, além de possuir efeito hipolipemiante (Chhikara *et al.*, 2019; Hadipour *et al.*, 2020; Nirmal *et al.*, 2021; Tutunchi *et al.*, 2019).

Nas beterrabas os pigmentos de betalaínas mais abundantes são as betacianinas que correspondem de 75-95% dos pigmentos presentes, com destaque para a betanina pigmento que constitui de 75-78% do conteúdo de betacianinas, sendo o responsável pela cor vermelha arroxeada das beterrabas, já as betaxantinas correspondem de 5-25% das betalaínas. Este conteúdo é dependente do grau de maturação da beterraba, da variedade e das condições climáticas (Neslihan & Sukru, 2020; Ng & Sulaiman, 2018; Sadowska-Bartosz & Bartosz, 2021). As betalaínas são consideradas uma das alternativas ao uso de antocianinas como corante natural, em especial a betanina de beterraba, que é aprovada como corante alimentar vermelho sob o código E-162 pela União Europeia e pelo título 21 do Código de Regulação Federal parte 73.40 do Food and Drug

Administration (FDA), sendo utilizado em uma vasta gama de alimentos como bebidas, pasta de tomate, molhos, geleias, bebidas não lácteas, macarrão, balas de goma, produtos de carne processada, sorvetes, doces e cereais matinais (Celli & Brooks, 2017; Kumorkiewicz-Jamro *et al.*, 2021; Ng & Sulaiman, 2018; Tutunchi *et al.*, 2019).

As betalaínas, assim como as antocianinas, tem sua estabilidade afetada por diversos fatores sendo estes intrínsecos como a estrutura química e presença de enzimas nos tecidos vegetais, e extrínsecos como pH, temperatura, luz, presença ou ausência de oxigênio, presença de íons metálicos, atividade de água, o que contribui para sua degradação e consequente perda de cor (Carreón-Hidalgo et al., 2022; Otálora et al., 2020). As betalaínas são utilizadas como corantes naturais em uma grande variedade de alimentos, isto está atrelado ao fato de que diferente das antocianinas que se apresentam instáveis em pH maior que 3, as betalaínas devido a sua natureza altamente hidrofílica são relativamente estáveis em uma ampla faixa de pH de 3 a 7, o que as tornam como a melhor escolha para colorir alimentos tanto ácidos como de baixa acidez. Contudo, as betalaínas apresentam sua estabilidade máxima na faixa de pH de 5 a 6, e em valores de pH maiores que 7 e menores que 3 uma série de reações desencadeiam a degradação das mesmas causando mudança/perda de cor, como a conversão do vermelho aniônico para o violeta catiônico quando em condições muito ácidas (pH < 3), ocasionando a mudança de cor das betalaínas de vermelho para azul-violeta, e a produção de coloração amarelo amarronzado gerada pela hidrólise da ligação aldimina quando em condição alcalina (pH > 7) (Carreón-Hidalgo et al., 2022; Chhikara et al., 2019; Hadipour et al., 2020; Ngamwonglumlert et al., 2017; Sadowska-Bartosz & Bartosz, 2021).

A temperatura é o principal fator que afeta a estabilidade das betalaínas, de modo que o incremento na temperatura (>60 °C) leva ao aumento da taxa de degradação, principalmente quando o período de aquecimento é longo, acarretando na perda de cor e capacidade antioxidante. Além disso, a degradação térmica é dependente da presença de oxigênio, bem como da concentração das betalaínas. O tratamento térmico em betalaínas pode levar a degradação das mesmas por isomerização e/ou descarboxilação, que promovem uma pequena alteração hipsocrômica e hipocrômica, causando o deslocamento da absorção máxima do espectro, atribuindo coloração vermelho-alaranjado as betalaínas. Ademais, as betanina e isobetaninas podem ser desidrogenadas gerando neobetaninas de coloração amarelo-brilhante, e hidrolisadas produzindo ácido betalâmico e ciclo-DOPA-5-O-β-glicosídeo como produtos de degradação, que apresentam colorações amarela e incolor, respectivamente (Chhikara *et al.*, 2019; Coy-Barrera, 2020; Otálora *et al.*, 2020).

A estabilidade das betalaínas também pode ser afetada pela presença de íons metálicos como Fe<sup>2+</sup>, Fe<sup>3+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Al<sup>3+</sup>, Ni<sup>2+</sup>, Sn<sup>2+</sup> e Cr<sup>3+</sup>, de modo a acelerar a degradação por oxidação das betalaínas. Porém, agentes quelantes como ácido cítrico e ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) por meio da ligação com os íons metálicos ou pela neutralização parcial do nitrogênio amino carregado positivamente no centro eletrofílico, estabilizam a betanina protegendo-a da degradação promovida pelos íons metálicos. A presença de oxigênio no meio também causa a degradação das betalaínas, por meio de reações de oxidação que são mediadas por espécies reativas de oxigênio (ROS), sendo dependente do pH do meio, de modo que a degradação aumenta quando o pH se encontra acima do pH ótimo. Todavia, a degradação das betalaínas neste caso, pode ser evitada promovendo maior estabilidade as betalaínas por meio da remoção do oxigênio do meio (uso de atmosfera de nitrogênio), bem como pela adição de antioxidantes em especial os ácidos ascórbico e isoascórbico (Carreón-Hidalgo *et al.*, 2022; Esquivel, 2016; Ngamwonglumlert *et al.*, 2017; Sadowska-Bartosz & Bartosz, 2021).

As betalaínas tem a atividade de água (aw) como um dos principais fatores que afetam a sua estabilidade, uma vez que altos valores de aw facilitam reações hidrolíticas. Deste modo, alimentos ou sistemas alimentares ricos em betalaínas apresentam maior estabilidade quando apresentam baixa umidade e aw, pois tais condições reduzem a solubilidade dos reagentes, além de limitar a solubilização do oxigênio (Carreón-Hidalgo et al., 2022; Solovchenko et al., 2018). Outro fator que facilmente degrada as betalaínas é a luz, uma vez que a mesma aumenta a reatividade das betalaínas devido a excitação eletrônica do cromóforo pela absorção de luz UV e visível. A degradação das betalaínas é dependente da intensidade da luz, bem como da presença ou ausência de oxigênio e da concentração e reatividade das betalaínas. Em casos de condições anaeróbias, foram relatados que a ação da luz na degradação da betalaínas foi insignificante (Calva-Estrada et al., 2022; Coy-Barrera, 2020; Esquivel, 2016). Além disso, a presença de enzimas endógenas como glucosidases, peroxidases e polifenoloxidases em alimentos à base de beterraba vermelha, além de reduzirem o valor nutritivo dos alimentos, são responsáveis pela degradação das betalaínas e consequente perda de cor, por meio da oxidação dos grupos hidroxila fenólicos das betacianinas originando quinonas, promovendo a mudança de cor para marrom, fazendo-se necessário a inativação destas enzimas por meio de técnicas como o branqueamento (Otálora et al., 2020; Sadowska-Bartosz & Bartosz, 2021; Zeece, 2020).

#### 4.3 Copigmentação e a estabilidade de pigmentos naturais

A copigmentação é o principal mecanismo utilizado pelas plantas, como também por produtos alimentícios de origem vegetal, para estabilização da cor, que ocorre por meio de

interações intermoleculares, eletrostáticas, ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas (Gençdağ *et al.*, 2022; Maite T. Escribano-Bailon & Celestino Santos-Buelga, 2012). O fenômeno da copigmentação foi relatado por Willstatter e Zollinger (1916), ao verificarem que a oenina (malvidina 3-glicosídeo), pigmento da uva, apresentou mudança de tonalidade para um vermelho mais azulado, após a adição de tanino ou ácido gálico. Posteriormente, em estudo realizado por Robinson e Robinson (1931), observaram que o mesmo pigmento quando presente em diferentes partes da planta, tinha a capacidade de produzir diversas matizes de cores, o que levou a descoberta das interações do pigmento (antocianina) com alguns compostos incolores que poderiam modificar a coloração das antocianinas, esta descoberta induziu a realização de estudos sobre a copigmentação das antocianinas (Khan, 2016; Zhao *et al.*, 2020).

Processo espontâneo e exotérmico, a copigmentação se dá por meio do empilhamento do copigmento (compostos fenólicos, biopolimeros e íons metálicos) sobre porções das formas coloridas das antocianinas (íon flavílio ou formas quinoides). O copigmento é uma molécula incolor ou uma porção de uma molécula que deve possuir ou um sistema  $\pi$ -conjugado suficientemente estendido de modo a favorecer as interações de empilhamento  $\pi$ -  $\pi$ , ou grupos doadores/receptores de ligações de hidrogênio, como –OH e C=O. O mecanismo de copigmentação acontece por meio das interações de copigmentação intermolecular, copigmentação intramolecular, auto-associação e complexação metálica (Figura 6), destas as interações inter e intramoleculares são as mais importantes. (Gençdağ *et al.*, 2022; Maite T. Escribano-Bailon & Celestino Santos-Buelga, 2012; Trouillas *et al.*, 2016).

Copigmentação intermolecular

Complexação metálica

Complexação metálica

Pigmento Copigmento Açúcar Ácido

Figura 6. Interações de copigmentação

Adaptado de Gençdağ et al. (2022).

A copigmentação intermolecular ocorre por meio da interação não covalente das moléculas de antocianinas com um copigmento, esta interação ocorre por ligações de hidrogênio, força de Van der Waals, efeitos hidrofóbicos e interações iônicas, que originam complexos pigmento-copigmento, podendo levar ao aumento da absorção do pigmento no espectro visível (efeito hipercrômico), bem como causar mudança no máximo de absorção visível para comprimentos de onda mais longos (efeito batacrômico). Os complexos de copigmentação intermolecular, podem ser observados em fluidos vacuolares e extravacuolares em plantas, sendo os maiores responsáveis pela diversidade de cores das antocianinas em flores (Maite T. Escribano-Bailon & Celestino Santos-Buelga, 2012; Zhao *et al.*, 2020).

Na copigmentação intramolecular, é necessário a presença de uma ligação acil flexível, uma vez que o copigmento é o acil presente nas antocianinas, que se encontra covalentemente ligado ao pigmento por um glicosil (resíduo de açúcar da aglicona). A formação do complexo intramolecular se dá em conformações dobradas por interações covalentes entre o cromóforo da antocianidina e a porção do copigmento, porém podem ocorrer por meio de interações não covalentes, bem como por ligações de hidrogênio. A copigmentação intramolecular, por meio da estabilidade das antocianinas aciladas, protege o cromóforo do ataque nucleofílico da água, promovendo a síntese da chalcona ou pseudo-base (Huang *et al.*, 2021; M. Riaz *et al.*, 2016; Trouillas *et al.*, 2016).

A auto-associação pode ocorrer pela ligação de duas moléculas de antocianina idênticas ou entre duas moléculas de antocianinas diferentes, por meio de interações hidrofóbicas entre o empilhamento paralelo dos núcleos aromáticos das moléculas de antocianinas (cátion flavílio), protegendo-os da hidratação e promovendo sua conversão em bases quinonoídes. A auto-associação em plantas e alimentos tende a competir com a copigmentação intermolecular, de modo que a relação entre as concentrações de pigmento e copigmento, é o que vai determinar qual o tipo de copigmentação dominante (Gençdağ *et al.*, 2022; Huang *et al.*, 2021; Trouillas *et al.*, 2016).

No caso da complexação metálica, a interação das antocianinas com os íons metálicos se dá pela doação de prótons das antocianinas por meio da transferência de carga para os orbitais vazios dos íons metálicos, como Ca<sup>2+</sup>, Fe<sup>3+</sup>, Al<sup>3+</sup> e Zn<sup>2+</sup>, podendo promover efeitos hipercrômicos e deslocamentos batocrômicos. A interação entre íons metálicos e antocianinas promove a formação de coloração azul, mas esta deve ser combinada com a copigmentação intermolecular para a obtenção de um azul estável, esta combinação dá origem a um complexo metal-pigmento-copigmento onde o íon metálico se liga ao anel B de cada antocianina, estas ligações se empilham e pares de moléculas de copigmentos são empilhadas sobre elas (Figura 6). Porém, a indústria

alimentícia tem apresentado pouco interesse neste mecanismo, devido a possibilidade de contaminação por metais (Gençdağ *et al.*, 2022; Huang *et al.*, 2021; Trouillas *et al.*, 2016).

A copigmentação é um mecanismo que promove o aumento tanto da estabilidade, como da intensidade de cor das antocianinas, sendo esta atribuída a mudança batocrômica do espectro de absorção e da hipercromaticidade de modo simultâneo. Nas betalaínas a utilização de ácido ascórbico, ácido isoascórbico e ácido cítrico, promove maior estabilidade a este pigmento (Khan, 2016). Em estudo realizado por Khan & Giridhar (2014), verificou-se que a presença de Se (selênio) e ácido ascórbico em suco de *Rivina humilis* gerou o aumento da estabilidade da betanina e intensificou a cor (hipercromaticidade), de modo que tal efeito foi atribuído a formação de um complexo de ácido ascórbico (copigmento)-Se-betanina, semelhante ao complexo ácido ascórbico-metal-antocianina.

A matriz natural de extratos vegetais apresenta copigmentos nas suas composições, promovendo a estabilização da cor. Contudo, os efeitos da copigmentação são extremamente influenciados por fatores como a estrutura química do copigmento, pH, razão molar do pigmento para o copigmento, temperatura e solventes, o que acaba por limitar o uso de copigmentos na indústria alimentícia, fazendo-se necessário selecionar e planejar cuidadosamente o uso de um copigmento, de maneira que o mesmo seja compatível com o alimento em que será utilizado e com suas condições de processamento (Gençdağ *et al.*, 2022; Khan, 2016; Tan *et al.*, 2021).

#### 4.4 Microencapsulação por secagem por atomização (spray dryer)

Na indústria alimentícia, a técnica de microencapsulação foi introduzida em meados do século XX, sendo seu procedimento descoberto pelo químico holandês H. G. Bungenberg de Jong, no ano de 1932. O processo de microencapsulação promove o revestimento ou a incorporação de compostos líquidos ou sólidos e de até mesmo gasosos, em uma matriz homogênea ou heterogênea de maneira a formar micropartículas com uma membrana semipermeável fina, porém forte com diâmetros entre 1 e 1000 μm. O objetivo da microencapsulação é a melhora no desempenho e manuseio do produto de interesse, de modo a isolá-lo promovendo maior estabilidade e preservação de sua biodisponibilidade, garantir que o mesmo se mantenha inalterado em um maior espaço de tempo, além de possibilitar que gostos e sabores sejam mascarados (Frakolaki *et al.*, 2021; Furuta & Neoh, 2021; Naveena & Nagaraju, 2020; Ye *et al.*, 2018).

A microencapsulação é um processo que proporciona o revestimento uniforme de substâncias ativas ou compostos funcionais, que compõem o núcleo denominado também como agente ativo, material de enchimento, fase de carga útil e encapsulado, permitindo a separação deste da matriz circundante que pode ser denominada como casca, material de parede, material de

suporte e revestimento. Este processo promove a proteção do encapsulado de condições ambientais que o desestabilizem e reduzam sua vida útil como luz, umidade e oxigênio, além de melhorar a solubilidade de compostos hidrofílicos ou de hidrofóbicos como óleos e lipídeos, e poder proporcionar a liberação controlada do encapsulado em locais específicos do corpo humano. Geralmente, o material de parede é aplicado na forma líquida (solução, suspensão ou material fundido), devendo apresentar excelentes propriedades de formação de filmes e barreiras (Arenas-Jal *et al.*, 2020; Furuta & Neoh, 2021; Nguyen *et al.*, 2022; Piñón-Balderrama *et al.*, 2020).

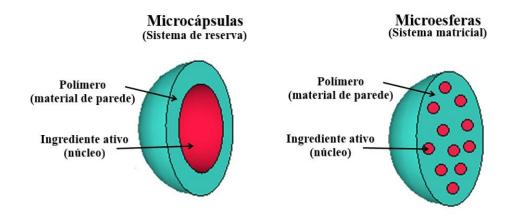
Existem 3 grupos de métodos de microencapsulação, sendo a escolha do método a ser utilizado realizada de acordo com as aplicações e fatores específicos, como tamanho da partícula, características físico-químicas do encapsulado e do material de parede, mecanismo de liberação e custo do processo. Os métodos podem ser físicos que incluem processos de atomização (*spray dryer* e *spray chilling*), liofilização, precipitação de fluido supercrítico e evaporação de solvente; químicos como polimerização interfacial e complexação de inclusão molecular; e físico-químicos como coacervação, lipossomas e gelificação iônica. Para o processo de microencapsulação os materiais encapsulantes ideais devem ser suaves e sem sabor, além de apresentarem alta solubilidade, propriedades emulsificantes e características que promovam a secagem. Polímeros naturais (e seus derivados) ou lipídeos são utilizados como agentes encapsulantes, sendo os mais comuns maltodextrinas, goma arábica, carragenina, ciclodextrinas, dextrinas, quitosana, gelatina, caseinato de sódio, amido pré-gelatinizado, proteínas do leite (caseínas e soro de leite), dentre outros (Cid-Ortega & Guerrero-Beltrán, 2020; Nguyen *et al.*, 2022; Ozkan *et al.*, 2019).

Os métodos de microencapsulação dão origem a micropartículas que podem ser definidas como microcápsulas e microesferas, estas se distinguem pela forma que o encapsulado encontrase disperso. Nas microcápsulas o material encapsulado (núcleo) e o material de parede (casca) apresentam-se bem definidos, já nas microesferas o material encapsulado encontra-se disperso no material de parede o que acaba promovendo uma certa exposição do encapsulado que pode estar na superfície da microesfera ou próxima dela (Figura 7). Porém, mesmo as microcápsulas sendo capazes de proporcionar melhor proteção do encapsulado, as microesferas são mais utilizadas por apresentarem proteção suficiente para algumas aplicações, além de poderem ser obtidas por técnicas de processamento mais simples e baratas (Arenas-Jal *et al.*, 2020; Paulo & Santos, 2017).

Dentre os métodos de microencapsulação o *spray drying* ou secagem por pulverização é um dos mais utilizados nas indústrias farmacêutica, cosmética e alimentícia, nesta última vem sendo empregado desde 1930 na produção de sabores encapsulados. A microencapsulação por *spray drying* possibilita a rápida evaporação da água, o que torna este método adequado para materiais sensíveis ao calor, pois mesmo utilizando altas temperaturas o tempo de contato é muito

curto (5 - 30 segundos) (Cid-Ortega & Guerrero-Beltrán, 2020; Estevinho & Rocha, 2018; Nguyen *et al.*, 2022).

Figura 7. Diferença morfológica entre microcápsulas e microesferas



Fonte: Adaptado de Paulo & Santos (2017)

O processo de microencapsulação por *spray drying* (Figura 8) se dá pela atomização de um liquído em pó seco e é divido em três etapas, a primeira corresponde a homogeneização da solução de alimentação composta pelo material a ser encapsulado (formador do núcleo) e o material de parede (encapsulante), esta deve ser realizada permitindo a perfeita incorporação dos materiais para que a solução passe corretamente por todo equipamento atomizador; na segunda etapa a solução de alimentação é passada por um bico pulverizador ou atomizador, formando pequenas gotículas que facilitarão a evaporação do solvente (geralmente água) ao entrarem em contato com o ar quente na câmara de secagem; por fim na terceira etapa os pós são coletados por ciclones ou filtros (Jiménez-González & Guerrero-Beltrán, 2021; Ozkan *et al.*, 2019).

A microencapsulação por *spray drying* é uma técnica flexível, de custos de produção inferiores a outras técnicas, que apresenta vastas opções de materiais de encapsulamento, sendo um eficiente formador de partículas de boa qualidade, além de ser adaptável aos equipamentos de processamento industrial comumente utilizados, o que torna esta técnica com potencial para produção em larga escala. Na indústria alimentícia a microencapsulação por *spray drying* é amplamente utilizada para o encapsulamento de fitoquímicos (utilizados como aditivos, corantes e aromatizantes), vitaminas, minerais, enzimas, microrganismos, agentes de sabor, óleos e gorduras, de modo a dar a estes produtos características que facilitem sua incorporação em diferentes produtos alimentícios, tais características dependem de fatores como geometria do bico atomizador, viscosidade da solução de alimentação, temperatura de secagem, vazão do ar de secagem, vazão de alimentação, velocidade do atomizador, tipo e concentração do material de

parede utilizado (Cid-Ortega & Guerrero-Beltrán, 2020; Estevinho & Rocha, 2018; Jiménez-González & Guerrero-Beltrán, 2021; Khan, 2016; Ozkan *et al.*, 2019).

Entrada do ar quente

Bico atomizador

Gotículas atomizadas

Saída de ar

Câmara de secagem

Ciclone coletor

Saída de partículas molhadas e maiores

Coletor de pó

**Figura 8.** Processo de spray drying

Fonte: Autora (2022)

A técnica de microencapsulação por spray drying (secagem por pulverização) é a mais utilizada para a proteção de compostos fenólicos e pigmentos/corantes alimentares naturais por variados tipos de materiais de parede. No caso dos pigmentos naturais, estudos comprovam que o uso da microencapsulação por spray drying é eficaz no encapsulamento de carotenoides, antocianinas, betalaínas e clorofilas, permitindo a preservação destes, além de promover uma melhor absorção pela incorporação dos pigmentos a um revestimento ou material de parede. Contudo, por essa técnica fazer uso de temperaturas relativamente altas (temperatura do ar de entrada de 150 – 200 °C e ar de saída de 50 – 80 °C), mesmo com o tempo de contato curto podem ocorrer danos aos pigmentos naturais (Assadpour & Jafari, 2019; Ghosh *et al.*, 2022; Shishir & Chen, 2017).

A produção de pós de pigmentos naturais por spray drying possui alto potencial econômico, porém as propriedades destes possuem alguns problemas como, respingos, flutuação, viscosidade, baixa solubilidade e alta higroscopicidade, que prejudicam o manuseio e acondicionamento dos pós. Estudos demonstram que, a temperatura de secagem bem como o uso de agentes encapsulantes, afetam significativamente as propriedades físicas dos pós, além disso são relatados que o uso de agentes encapsulantes naturais como maltodextrina, goma arábica, amido ceroso e

proteínas isoladas de soja, aumentam a retenção dos pigmentos quando utilizada a técnica do spray drying, uma vez que os agentes encapsulantes apresentam características termoplásticas e capacidade de alterar a higroscopicidade (Xu et al., 2018).

A maltodextrina é um amido hidrolisado obtido pela hidrólise parcial do amido com ácido ou enzima que tem sido bastante empregada como agente encapsulante (material de parede) no encapsulamento de ingredientes ativos. Por apresentar características como boa solubilidade e baixa viscosidade em altos teores de sólidos, a maltodextrina vem sendo considerada um bom material de parede para o encapsulamento de ingredientes alimentícios somado a sua capacidade de aumentar a temperatura de transição vítrea, reduzir a viscosidade dos pós e aumentar a estabilidade dos mesmos, bem como reduzir significativamente problemas de aglomeração e aderência nos pós (Nguyen *et al.*, 2022; Piñón-Balderrama *et al.*, 2020; Shishir *et al.*, 2018; Xu *et al.*, 2018).

Existem diversos tipos de maltodextrinas, divididas de acordo com a fonte do amido a ser hidrolisado, que pode ser obtido de batata, arroz, milho ou aveia. O uso de maltodextrina para produção de pós por spray drying tem suas propriedades finais dependentes do equivalente dextrose (DE) da maltodextrina aplicada, sendo a faixa entre 10 e 20 DE a mais adequada para uso como material de parede (Cid-Ortega & Guerrero-Beltrán, 2020; Michalska-Ciechanowska et al., 2020; Piñón-Balderrama et al., 2020). O valores de equivalente dextrose (DE) afetam diretamente as propriedades físico-químicas das maltodextrinas, de modo que, o aumento do DE resulta no aumento da docura e da solubilidade, devido a serem compostas por cadeias de glicose mais curtas resultando em menor peso molecular, além disso, maiores DE causam o aumento do teor de umidade do pós por possuir maior número de grupos hidrofílicos e reduções de viscosidade, coesividade e poder anticristalizante (devido ao maior teor de acúcares redutores). Já maltodextrinas com menores valores de DE (<12) apresentam maior peso molecular (carboidratos de alto peso molecular), o que leva a redução da viscosidade durante processo de secagem por pulverização, além disso as maltodextrinas de menores DE não são doces e apresentam a capacidade de melhorar atributos sensoriais dos alimentos, sendo a maltodextrina DE 10 a mais frequentemente utilizada nos processos de encapsulamento por possuir a funcionalidade mais ideal (Du et al., 2021; Nadali et al., 2021; Shishir et al., 2018).

## 5. MATERIAL E MÉTODOS

#### 5.1 Produção de blends de betalaínas de beterraba e antocianinas de hibisco

## 5.1.1 Obtenção do extrato concentrado de antocianinas do hibisco (ECAH)

Flores frescas de hibisco (*Hibiscus sabdariffa*) foram obtidas diretamente com o produtor da cidade de Garanhuns – PE, no mês de janeiro, sendo estas cultivadas sob irrigação em propriedade de solo arenoso e de média fertilidade. As floires foram lavadas e secas em estufa com circulação de ar a 40 °C, até umidade constante (± 20 horas). Após a secagem as flores de hibisco secas foram trituradas em moinho (TECNAL) até adquirirem forma de pó, de modo a aumentar a superfície de contato. A extração foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Oliveira *et al.* (2016) com modificações. O pó das flores de hibisco foi submetido a extração na proporção proporção sólido/líquido de 1:20 (m/v) usando etanol 70%, e então a mistura foi acidificada com HCl (1,5 mol/L) até pH 2,0. A suspensão foi deixada em repouso em ausência de luz por 48 horas, sob refrigeração (5 °C ± 1 °C). Após as 48 horas, os extratos foram filtrados em papel filtro e concentrados para 20% do volume inicial em evaporador rotativo (Heidolph LABOROTA 4000) a 49 °C. O extrato concentrado foi acondicionado em frasco âmbar sob abrigo de luz e mantido sob congelamento (-18,0 ± 1,0 °C) até o momento do uso.

## 5.1.2 Obtenção do extrato concentrado de betalaínas de beterraba (ECBB)

As raízes de beterraba vermelha (*Beta vulgaris L.* ssp. *Vulgaris*) foram obtidas no Centro de Abastecimento e Logística de Pernambuco (CEASA / Recife – PE), advindas da cidade de Canarana – BA. As beterrabas foram lavadas e sanitizadas em solução de hipoclorito de sódio a 200 ppm de cloro ativo, por 15 minutos, e então enxaguadas para remoção do cloro residual. Realizou-se o descasque e o corte das beterrabas em cubos (espessura de ± 2mm), que foram colocadas para secagem em estufa com circulação a 40 °C, até umidade constante (± 20 horas). As beterrabas secas foram trituradas em moinho (TECNAL) até adquirirem forma de pó, de modo a aumentar a superfície de contato. Feito isto, a extração foi realizada de acordo com o descrito por Cuchinski *et al.* (2010), com modificações. O pó de beterraba foi submetido a extração na proporção sólido/líquido 1:20 (m/v) usando etanol 70%. A mistura foi deixada em repouso por 48 horas, ao abrigo de luz e sob refrigeração (5 °C ± 1 °C). Os extratos foram filtrados em papel filtro e concentrados para 20% do volume inicial em evaporador rotativo (Heidolph LABOROTA 4000) a 49 °C. O extrato concentrado foi acondicionado em frasco âmbar sob abrigo de luz e mantido sob congelamento (-18,0 ± 1,0 °C) até o momento do uso.

#### 5.1.3 Formulação dos Blends

Foram formulados 3 blends utilizando diferentes proporções de extrato concentrado de antocianinas de hibisco (ECAH) e extrato concentrado de betalaínas de beterraba (ECBB) (Tabela 1). Os blends foram acondicionados em frasco âmbar sob abrigo de luz e mantido sob congelamento  $(-18,0 \pm 1,0 \,^{\circ}\text{C})$  até o momento do uso.

**Tabela 1.** Formulações dos Blend's de antocianinas de hibisco (ECAH) e betalaínas de beterraba (ECBB)

Blends	ECBB (%)	ECAH (%)
A	75	25
В	50	50
C	25	75

# 5.2 Caracterização físico-química individual e dos blends de extratos de antocianinas de hibisco e betalaínas de beterraba

#### 5.2.1 Sólidos Solúveis Totais

A determinação de sólidos solúveis dos extratos e blends foi estimada pela medida de seu índice de refração por comparação com tabelas de referência, de acordo com os AOAC (2006). O refratômetro de Abbé foi ajustado para a leitura de n em 1,3330 com água a 20 °C, de acordo com as instruções do fabricante. Foram transferidas de 3 a 4 gotas da amostra homogeneizada para o prisma do refratômetro de bancada (Automatic Refractometer Reichert) então realizou-se a leitura diretamente na escala em graus Brix.

#### 5.2.2 Umidade

As umidades dos extratos e blends foram determinadas em balança infravermelho (MARTE – IDSO Piracicaba/SP) a 105 °C durante 45 minutos.

# 5.2.3 pH

O pH dos extratos e blends foi determinado por processo eletrométrico, de acordo com os AOAC (2006). Aproximadamente 20 mL dos extratos e blends foram acondicionados em um béquer sob agitação permitindo que todas as partículas ficassem uniformemente suspensas, e então se determinou-se o pH com o auxílio do pHmetro (TECNAL® TEC-3MP) previamente calibrado.

#### 5.2.4 Acidez titulável

De acordo com os AOAC (2006), a determinação da acidez dos extratos e blends foi realizada por volumetria potenciométrica. Um volume de 10 mL dos extratos e blends foram homogeneizados em um béquer de 300 mL, posteriormente diluídos com 100 mL de água e agitados moderadamente, e então foi mergulhado o eletrodo na solução. Realizou-se então a titulação com solução de hidróxido de sódio 0,1 M até uma faixa de pH (8,2-8,4). Feita a titulação, a acidez foi determinada pela Equação 1:

$$Acidez(\%) = V \times f \times 10P \tag{1}$$

Sendo, V é o volume em mL da solução de hidróxido de sódio gasto na titulação, f o fator de correção da solução de hidróxido de sódio, P a massa da amostra em g ou volume pipetado em mL.

#### 5.3 Cor instrumental dos extratos e blends

A cor dos extratos foi determinada através de um Colorímetro manual (Color Reader CR-400 Konica Minolta), previamente calibrado com um padrão branco antes de cada análise, com base nos parâmetros de cor L \* a \* b \*. O ângulo hue (hº) e o croma (C \*) foram calculados de acordo com as Equações 2 e 3, respectivamente:

$$h^{\circ} = arctan(b*a*)$$
 (2)

$$C *= (a2+b2)1/2$$
 (3)

#### 5.4 Caracterização dos compostos bioativos dos extratos e blends

#### 5.4.1 Teor de betalaínas

O teor de betalaínas foi determinado no extrato de beterraba e nos blends foi determinado de acordo com método descrito por Stintzing *et al.* (2005). Amostras do ECBB e dos blends foram homogeneizadas em solução tampão de McIlvaine (pH 6,5) até obter uma leitura em espectrofotômetro (Shimadzu UV-Vis 1900i) entre 0,8 e 1,0, nos comprimentos de onda de 536 nm para betacianinas, 480 nm para betaxantinas e a 600 nm para correção. O teor de betalaínas foi determinado de acordo com a Equação 4:

$$Betalainas(mg/L) = A \times DF \times PM \times 1000\varepsilon \times 1$$
 (4)

Sendo, A o valor de absorbância, DF o fator de diluição e 1 o comprimento do caminho (1 cm) da cubeta. Para quantificação de betacianinas (Bc) e betaxantinas (Bx), os pesos moleculares (PM) e absortividade molar (ε) foram, respectivamente, 550 g.mol-1 e 60000 L.mol<sup>-1</sup>.cm<sup>-1</sup> em

 $H_2O$ :  $\lambda = 538$  nm para betanina; 339 g.mol<sup>-1</sup> e 48000 L.mol<sup>-1</sup>.cm<sup>-1</sup> em  $H_2O$ :  $\lambda = 480$  nm para vulgaxantina I.

#### **5.4.2** Teor de antocianinas totais

A determinação de antocianinas totais no ECAH e nos blends, foi de acordo com o método do pH diferencial, descrito por Mónica Giusti & Wrolstad (2005). Foram utilizados dois sistemas tampão: cloreto de potássio de pH 1,0 (0,025 M) e acetato de sódio de pH 4,5 (0,4 M). Foram determinados os fatores diluição de cada amostra (ECAH e blends) por meio da diluição em tampão de cloreto de potássio (pH 1,0), até que a absorbância da amostra quando medida frente a um branco (água destilada) a 520 nm no espectrofotômetro (Shimadzu UV-Vis 1900i), estivesse inferior a 1,2. Feito isso, foram preparadas as diluições, de acordo com o fator diluição determinado para cada amostra, uma em tampão cloreto de potássio (pH 1,0) e outra em tampão acetato de sódio (pH 4,5). As diluições ficaram equilibrando por 15 minutos, e então foi medida a absorbância das diluições de cada amostra nos comprimentos de onda de 520 nm e 700 nm (para correção). Calculou-se a absorbância final da amostra (A), através da Equação 5:

$$A = (A_{520\text{nm}} - A_{700nm})pH \ 1,0 - (A\lambda_{520\text{nm}} - A_{700nm})pH \ 4,5 \tag{5}$$

Então o teor de antocianinas foi calculado de acordo com a equação 6:

Antocianinas 
$$(mg/L) = A \times PM \times DF \times 1000(\varepsilon \times 1)$$
 (6)

Sendo, *PM* o peso molecular da antocianina cianidina-3-*O*-glicosídeo (449,2); *DF* é o fator de diluição; e E é a absortividade molar (26.900) e 1 o comprimento do caminho (1 cm) da cubeta.

## 5.4.3 Quantificação de compostos fenólicos

Os compostos fenólicos totais foram determinados, de acordo com metodologia descrita por Wettasinghe e Shahidi (1999), através do método espectrofotométrico (Shimadzu UV-Vis 1900i), onde a absorbância será registrada a 725 nm, utilizando reagente de Follin Ciocaulteau (Merck) e água como solvente. A determinação do teor de fenólicos totais será por interpolação da absorbância das amostras contra uma curva de calibração (y = 0,00473369 x – 0,0986992; R² = 0,98449), construída com ácido gálico e os resultados expressos em mg em equivalente de ácido gálico por 100 gramas de amostra.

# 5.5 Análise do potencial antioxidante dos blends e extratos individuais

#### 5.5.1 Método DPPH (2,2- difenil-1-picril-hidrazil)

A capacidade de sequestro do radical livre DPPH foi determinada conforme proposto por Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995). De maneira que, alíquotas dos extratos (ECBB e ECAH) e dos blends foram adicionadas a 3,9 mL de solução metanólica de DPPH (25 mg/L). A absorbância das amostras foi determinada em espectrofotômetro (Shimadzu UV-Vis 1900i) a 515 nm, a 0 minuto, 1 minuto e a cada 15 minutos até atingir um platô. A determinação da capacidade antioxidante foi expressa em percentual de inibição (%).

## 5.5.2 Método FRAP (poder antioxidante de redução do ferro)

O ensaio do poder antioxidante redutor férrico (FRAP) foi conduzido de acordo com o método relatado por Thaipong, Boonprakob, Crosby, Cisneros-Zevallos, & Byrne (2006). A solução do reagente FRAP foi obtida misturando 25 ml de tampão de acetato, 2,5 ml de TPTZ (2,4,6- tripiridils-triazina) e 2,5 mL de solução de FeCl3 6H2O. Então, foram formuladas 3 (três) diluições para cada extrato e blends, uma alíquota de 90 μL de cada diluição foi transferida para tubos de ensaio, acrescentou-se 270 μL de água destilada e 2,7 mL de solução do reagente FRAP, que foram homogeneizados e colocados para reagir em banho-maria à 37 °C sob abrigo de luz, por 30 minutos. A absorbância foi medida a 595 nm usando um espectrofotômetro (Shimadzu UV-Vis 1900i). A atividade antioxidante teve seu resultado expresso em μM de Sulfato Ferroso / g de matéria seca.

# 5.6 Microencapsulação de blends de antocianinas de hibisco e betalaínas de beterraba por spray-dryer

Soluções injetoras com concentrações de 30% de sólidos foram preparadas a partir dos blends dos extratos de antocianinas de hibisco e betalaínas de beterraba vermelha (3% de sólidos), água e maltodextrina 10 DE (27%) (Ingredion -MOR-REX® 1910). A secagem por atomização foi realizada em um mini spray dryer – LM, modelo MSD 1.0 (LABMAQ do Brasil LTDA - Ribeirão Preto/São Paulo) presente na Universidade Federal Rural de Pernambuco, frente as condições de vazão do líquido 0,79 L/h, com bico injetor de 1,2 mm de diâmetro, fluxo de ar de 38 m³·h⁻¹, pressão do ar 0,6 bar e temperatura de entrada de 150 °C e temperatura de saída de 91 °C. Tais condições foram baseadas em buscas de estudos de microencapsulação dos extratos que compõe os blends.

5.7 Caracterização dos blends de antocianinas de hibisco e betalaínas de beterraba, microencapsulados por spray dryer.

# 5.7.1 Umidade

De acordo com o descrito no tópico 5.2.2.

## 5.7.2 Atividade de água

A atividade da água dos pós foi medida usando um medidor digital de atividade da água a  $25 \pm 1$  ° C (Aqualab).

### 5.7.3 Higroscopicidade

A determinação da higroscopicidade foi baseada no método de Tonon *et al.* (2008) como pequenas modificações. Os pós do blends foram espalhados uniformemente em uma placa de Petri dentro de um dessecador contendo NaCl saturado a 75% de umidade relativa. Após 1 semana, as amostras foram pesadas e a higroscopicidade foi expressa como g de umidade adsorvida por 100 g de sólidos secos (g/100 g).

#### 5.7.4 Molhabilidade

A molhabilidade foi definida de acordo com o método descrito por (Fuchs *et al.*, 2006), sendo está o tempo necessário para uma amostra de 1 g de pó povilhada sobre uma superfície de 100 ml de água destilada a 25 °C submergir completamente no líquido.

#### 5.7.5 Solubilidade

A solubilidade foi determinada de acordo com o descrito por Cano-Chauca *et al.* (2005), com modifições. Amostras de 1 g de dos pós dos blends foram adicionados a 25 ml de água destilada, que foi mistura com auxílio de um Vortex na velocidade máxima por 5 min e em seguida foi centrifugada a 3500 rpm por 10 minutos. Alíquotas de 20 ml dos sobrenadantes foram transferidas para placas de Petri pré-pesadas e imediatamente seca em estufa (Marconi, MA-035) a 105 °C por 5 h. Então a solubilidade foi calculada como a porcentagem (%) de sobrenadante seco em relação à quantidade de pó inicialmente utilizada (1 g).

#### 5.7.6 Cor instrumental das microcápsulas

De acordo com o descrito no tópico 5.3.

#### 5.7.7 Morfologia das partículas (MEV)

A morfologia das microcápsulas foi avaliada por microscopia eletrônica de varredura (MEV). As micropartículas foram aderidas em porta - espécimens metálicos (*stubs*) com uma fita adesiva de dupla face condutora convencional. Em seguida, a amostra foi metalizada com uma liga de ouro em um metalizador LEICA em SCD 500 (Leica, Wetzlar, Alemanha) e examinada em um microscópio eletrônico de varredura marca FEI QUANTA 200F.

#### 5.8 Propriedades funcionais das microcápsulas

#### 5.8.1 Retenção de betalaínas e antocianinas

Foram determinados os teores de betalaínas e de antocianinas nas micropartículas (pó) dos blends, de acordo com os métodos descritos nos tópicos 5.4.1 e 5.4.2. Para a determinação da retenção de antocianinas e betalaínas nas microcápsulas, os teores totais de antocianinas e betalaínas foram calculados em mg/100 g de matéria seca, na solução injetora (mistura antes de entrar no spray dryer), assim como no pó resultante (R. V. Tonon *et al.*, 2008). Sendo a retenção calculada pela Equação 7:

$$Retenção(\%) = \frac{cT_{p6}}{cT_{SI}} \times 100$$
 (7)

Onde,  $CT_{p6}$  é o teor de antocianinas e betalaínas nas micropartículas e  $CT_{SI}$  o teor de antocianinas e betalaínas nas soluções injetoras.

#### 5.8.2 Eficiência de encapsulamento por meio do teor de compostos fenólicos

A eficiência da microencapsulação foi baseada no teor de compostos fenólicos totais presentes no complexo formado entre os compostos bioativos e os materiais encapsulantes, seguindo o método descrito por Robert *et al.* (2010). A porcentagem de compostos de superfície (SC) e a eficiência do processo de microencapsulação (EM) foram calculadas de acordo com as Equações 8 e 9.

$$SC(\%) = \frac{TCF_S}{TCF_{Total}} \times 100 \tag{8}$$

$$EM(\%) = 100 - SC(\%) \tag{9}$$

Onde, SC é o percentual de compostos fenólicos na superfície das microcápsulas,  $TCF_S$  é o teor de compostos fenólicos dna superfície,  $TCF_{Total}$  é o teor de compostos fenólicos totais e EM a eficiência de microencapsulação.

#### 5.9 Análise Estatística

Os resultados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey ao nível de significância de 5% de probabilidade (p < 0.05), utilizando o programa StatSoft Statistica. Todas as determinações foram realizadas em triplicata (n = 3) e os resultados expressos em média e desvio padrão.

#### 6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

# 6.1 Caracterização fisico-química dos extratos e blends de antocianinas de hibisco e betalaínas de beterraba

Os resultados da caracterização físico-química dos extratos e blends de antocianinas de hibisco e betalaínas de beterraba são apresentados na Tabela 2. Foi observado que em todos os parâmetros analisados os tratamentos apresentaram diferença significativa.

**Tabela 2.** Caracterização físico-química dos extratos e blends de antocianinas de hibisco e betalaínas de beterraba

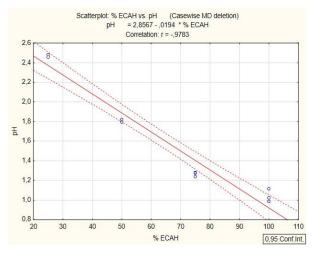
			BLEND A	BLEND B	BLEND C
	ECBB	ECAH	<b>75%ECBB</b>	50%ECBB	<b>25%ECBB</b>
			25 %ECAH	50%ECAH	<b>75%ECAH</b>
pН	$5,700^a \pm 0,111$	$1,036^{b}\pm0,067$	$2,470^{\circ} \pm 0,017$	$1,810^{d} \pm 0,017$	$1,263^{\rm e} \pm 0,021$
Acidez	$0.091^{e} \pm 0.069$	$8.629^{a} \pm 0.15$	$1,911^{d} \pm 0.05$	$3,759^{c} \pm 0,04$	$5,863^{\text{b}} \pm 0,03$
(g/100g)	0,091 ± 0,009	0,029 ± 0,13	1, 911 ± 0,03	3,737 ± 0,04	3,803 ± 0,03
SST	$16,433^{a} \pm 0,058$	15,900 <sup>b</sup> ±0,000	$13,666^{e} \pm 0,058$	$14,300^{d} \pm 0,000$	$15.400^{\circ} \pm 0.000$
(°Brix)	10,133 ± 0,030	13,500 ±0,000	13,000 ± 0,030	11,500 = 0,000	13,100 ± 0,000
Umidade	$85,160^{\rm e} \pm 0.227$	$86,656^{d} \pm 0,144$	$87,900^{b} \pm 0,195$	$88.456^{a} \pm 0.032$	$87,350^{\circ} \pm 0,191$
(%)	05,100 ± 0,227	00,000 ± 0,144	07,200 ± 0,123	00,430 ± 0,032	07,330 ± 0,171

Os valores representam a média de 3 repetições ± desvio padrão. Médias seguidas da mesma letra, na linha, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a probabilidade de 5%. ECBB: extrato concentrado de betalaínas de beterraba, ECAH: extrato concentrado de antocianinas de hibisco.

Com relação ao pH o extrato concentrado de betalaínas de beterraba (ECBB) apresentou valor de 5,700 e o extrato concentrado de antocianinas de hibisco (ECAH) apresentou o valor de 1,036, ambos encontram-se dentro dos valores que promovem a estabilidade dos pigmentos presentes em cada extrato. Segundo Rigolon *et al.* (2021) as antocianinas apresentam maior estabilidade em pH menor que 3, já no caso das betalaínas a estabilidade máxima é atingida segundo Sadowska-Bartosz & Bartosz (2021) na faixa de 5 a 6. No caso dos blends, todos apresentaram valores de pH que tendem a promover a estabilidade das antocianinas presentes, não sendo muito favoráveis para manter a estabilidade das betalaínas. Além disso, é possível observar que o conteúdo de ECAH apresenta correlação negativa significativa (r = -0,9783) com os valores

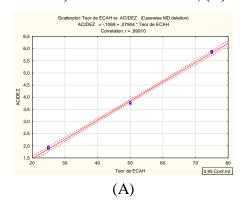
de pH (Figura 9), indicando que a medida que o conteúdo de ECAH aumenta nos blends, há redução nos valores de pH.

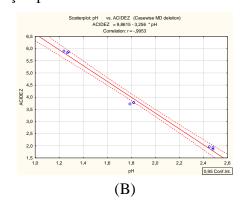
**Figura 9.** Correlação pH e percentual de ECAH (Extrato concentrado de antocianinas de hibisco) nos blends



Para acidez, os extratos confirmam os valores obtidos para pH, de modo que o ECBB apresenta-se como pouco ácido  $(0,13 \text{ g} \text{ de ácido cítrico/}100 \text{ mL} \pm 0,004)$ , enquanto o ECAH apresenta-se muito ácido  $(8,629 \text{ g} \text{ de ácido cítrico/}100 \text{ mL} \pm 0,15)$ . O valor de acidez para o ECBB foi próximo ao encontrado por Sardella (2016) de 0,19 g de ácido cítrico/ $100\text{ g} \pm 0,01$ . Nos blends A, B e C, os valores da acidez aumentaram ao modo que aumentou o conteúdo de ECAH e reduziuse o de ECBB, com valores de  $1,911 \pm 0,05$ ;  $3,759 \pm 0,04$ ;  $5,863 \pm 0,03$ , respectivamente. Deste modo, a acidez nos blends apresentou correlação positiva (r = 0,99910) com o teor de ECAH presente, e correlação negativa (r = -0,9953) com o pH (Figura 10).

**Figura 10.** (A) Correlação do teor de ECAH (Extrato concentrado de antocianinas de hibisco) e acidez nos blends, (B) Correlação pH e acidez dos blends.





Em relação aos teores de sólidos solúveis totais dos extratos, para ECBB foi de 16,433  $^{\circ}$ Brix  $\pm$  0,058, valor próximo ao encontrado por Sardella (2016) em extrato de beterraba (15,0  $^{\circ}$ Brix  $\pm$  0,0) e acima do encontrado por Ferreira *et al.* (2021) que foi de 7,33  $^{\circ}$ Brix  $\pm$  0,070, que pode sem explicado por conta uso do processo de concentração dos extratos por rotaevaporação. O

ECAH apresentou um teor de sólidos solúveis de 15,900 °Brix  $\pm$  0,000, valor dentro dos encontrados por Abou-Arab *et al.* (2011) para extratos de hibisco acidificados, de  $20.00 \pm 2.0$  (extrato acidificado com HCl) e  $16.00 \pm 1.0$  (extrato acidificado com ácido cítrico), e por Monteiro *et al.* (2017) que encontraram valores entre 13,4 e 17,4 °Brix em bebidas à base de hibisco. Nos blends é possível observar o aumento dos sólidos solúveis à medida que o conteúdo de ECAH aumenta, porém não é possível inferir que o teor de sólidos solúveis do ECAH exerça influência sobre o SST dos blends, uma vez que os mesmos apresentaram menor valor que o ECBB.

Os extratos ECBB e ECAH apresentaram percentual de umidade de  $85,160\% \pm 0,227$  e  $86,656\% \pm 0,144$ , respectivamente. Ferreira *et al.* (2021) apresentou umidade de  $93,013\% \pm 0,130^a$  para extrato de beterraba, valor superior ao do ECBB, o que pode ser justificado pelo uso do processo de concentração, que promoveu a eliminação do solvente reduzindo assim a umidade. No caso do ECAH o valor da umidade  $86,656 \pm 0,144$  encontra-se próximo ao encontrado por Hiromoto (2018) que foi de  $88,73\% \pm 0,20$ . Os blends A, B e C, apresentaram valores semelhantes ( $87,900 \pm 0,195; 88,456 \pm 0,032$  e  $87,350 \pm 0,191$ , respectivamente. Os valores de umidade tanto dos extratos como dos blends estão relacionados ao teor de sólidos presentes, visto que os extratos passaram por etapa de concentração de sólidos. Contudo, apesar de apresentar uma umidade alta, propensa a contaminação microbiológica, com exceção do extrato de beterraba, os demais extratos apresentaram pH desfavoráveis para crescimento microbiano.

## 6.2 Colorimetria dos extratos e blends

Na Tabela 3 estão apresentados os valores obtidos para as coordenadas de cor para ECBB, ECAH e os blends A, B e C. Na análise de cor, na coordenada L\* o ECBB e os blends B e C não diferiram significativamente, já o ECAH e o blend A apresentaram diferença significativa frente a todas as amostras ao nível de 5% de significância. O valor da coordenada L\* indica o grau de luminosidade ou brilho de uma cor, podendo apresentar valores de 0 (opaco ou "preto") a 100 (completamente transparente ou "branco"), e em produtos alimentícios apresenta relação com o seu conteúdo de pigmentos, de modo que produtos com maior teor de determinado pigmento tendem a ser mais escuros ou opacos por serem capazes de uma maior absorção de luz e consequentemente menor refletância ou transmitância (Hernández Salueña *et al.*, 2019).

Avaliando os valores de L\* para os extratos, é possível observar que o ECAH apresentou o menor valor (18,333±0,329) o que indica que o mesmo apresenta-se mais escuro que o ECBB (22,240±0,471). No caso do blends, o blend C (25% ECBB + 75% ECAH) apresentou o menor valor (mais escuro), seguido do blend B (50% ECBB \* 50% ECAH) do qual não apresentou diferença significativa, e do blend A (75% ECBB + 25% ECAH), como valores de 21,610±0,140;

21,666±0,021 e 23,186±0,144, respectivamente, sendo assim é possível inferir que o valor de L\* tendeu a diminuir de modo que se aumentou o conteúdo de ECAH nos blends.

**Tabela 3.** Análise de cor dos extratos e blends de antocianinas de hibisco e betalaínas de beterraba.

	L*	a*	b*	$h^{ m o}$	C*
ECBB	22,240 <sup>b</sup> ±0,471	34,513 <sup>b</sup> ±1,180	7,180 <sup>ab</sup> ±0,805	0,204 <sup>b</sup> ±0,016	35,255 <sup>b</sup> ±1,318
ЕСАН	18,333°±0,329	37,696 <sup>a</sup> ±0,586	7,333°a±0,471	0,192 <sup>b</sup> ±0,009	38,404°±0,663
BLEND A	23,186 <sup>a</sup> ±0,144	15,806°±0,768	6,143 <sup>b</sup> ±0,234	0,370 <sup>a</sup> ±0,004	16,958°±0,800
BLEND B	21,666 <sup>b</sup> ±0,021	15,513°±0,231	0,693°±0,012	0,044°±0,000	15,528°±0,231
BLEND C	21,610 <sup>b</sup> ±0,140	15,966°±0,446	0,853°±0,065	0,053°±0,003	15,989°±0,449

Os valores representam a média de 3 repetições ± desvio padrão. Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a probabilidade de 5%. L\*= luminosidade; a\*=+vermelho, -verde; b\*=+amarelo, -azul; h°= ângulo hue; C\*= croma. ECBB: extrato concentrado de betalaínas de beterraba; ECAH: extrato concentrado de antocianinas de hibisco

Na coordenada a\* o valor para ECAH (37,696±0,586) apresentou diferença significativa do ECBB (34,513±1,180), ambos diferiram significativamente dos blends A, B e C, que apresentaram os valores 15,806±0,768; 15,513±0,231 e 15,966±0,446, respectivamente, estes não diferiram significativamente. A coordenada a\* inclui o espaço de cores de vermelho (+ a\*) a verde (- a\*), visto isso todas as amostras apresentaram valor positivo para a coordenada a\*, indicando que em todas as amostras predominou a cor vermelha. Todavia, levando em conta apenas o aspecto da cor, qualquer um dos blends poderia ser utilizado como corante alimentício, sem grandes alterações na coloração do produto. Já em relação a coordenada b\*, que inclui o espaço de cores de amarelo (+ b\*) a azul (- b\*), o ECAH não apresentou diferença significativa do ECBB, este não apresentou diferença do blend A, e ambos diferiram significativamente dos blends B e C. Os valores de b\* positivos e menores que os valores de a\* favorecem a predominância da cor vermelha nos extratos e blends.

O ângulo hue ( $h^o$ ) expressa a tonalidade da cor, esta pode ser definida de acordo com seus valores da seguinte forma: vermelho- púrpura ( $0^{\circ}$ - $90^{\circ}$ ), amarelo ( $90^{\circ}$ - $180^{\circ}$ ), verde-azulado ( $180^{\circ}$ - $270^{\circ}$ ) e azul ( $270^{\circ}$ -360) (Prieto-Santiago *et al.*, 2020). Os extratos ECBB e ECAH não diferiram significativamente em relação ao ângulo hue, apresentando valores  $0,204 \pm 0,016$  e  $0,192 \pm 0,009$ , respectivamente, contudo diferem dos blends A, B e C. No caso dos *blends*, o blend A ( $0,370 \pm 0,004$ ) apresentou diferença significativa dos blends B ( $0,044\pm0,000$ ) e C ( $0,053\pm0,003$ ), que não diferiram significativamente entre si. No geral, tanto os extratos como os blends apresentaram valores de  $h^{\circ}$  entre 0 e 90, indicando que todos apresentaram tonalidade vermelho-púrpura (Figura 9).

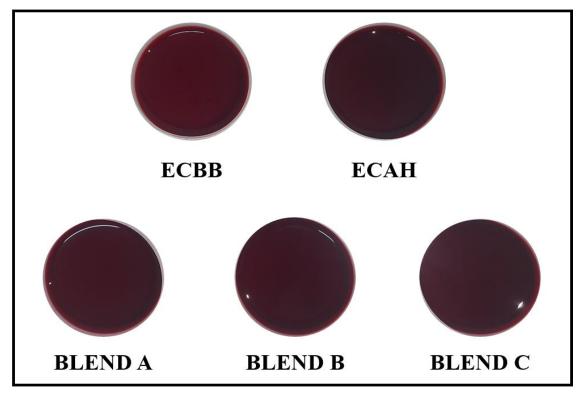
**Figura 11.** Tonalidades dos extratos e blends de antocianinas de hibisco e betalaínas de beterraba



Fonte: Autora (2022).\*Extratos e blends aplicados em papel toalha branco. ECBB: extrato concentrado de betalaínas de beterraba; ECAH: extrato concentrado de antocianinas de hibisco, Blend A: 75% ECBB + 25% ECAH; Blend B: 50% ECBB + 50% ECAH; Blend C: 25% ECBB + 75% ECAH.

O chroma (C\*) expressa a pureza ou saturação de uma cor, de modo que maiores valores de croma correspondem a maior intensidade de cor percebida a olho nu (Prieto-Santiago *et al.*, 2020). O valor do chroma (C\*) para ECAH (38,404  $\pm$  0,663) apresentou diferença significativa do ECBB (35,255 $\pm$ 1,318), ambos diferiram significativamente dos blends A, B e C, que apresentaram os valores, 16,958  $\pm$  0,800, 15,528 $\pm$ 0,231 e 15,989c $\pm$ 0,449, respectivamente, estes não diferiram significativamente entre si. De acordo com o chroma dos extratos em separado, o ECAH apresentou cor mais intensa, já nos blends as intensidades das cores dos mesmos foram similares (Figura 12).

**Figura 12.** Intensidade das cores dos extratos e blends de antocianinas de hibisco e betalaínas de beterraba.



Fonte: Autora (2022). ECBB: extrato concentrado de betalaínas de beterraba; ECAH: extrato concentrado de antocianinas de hibisco, Blend A: 75% ECBB + 25% ECAH; Blend B: 50% ECBB + 50% ECAH; Blend C: 25% ECBB + 75% ECAH.

A partir dos resultados obtidos na análise de cor pode-se inferir que, possivelmente, ocorreu copigmentação das antocianinas pelas betalaínas, visto que houve um aumento na tonalidade (redução do  $h^o$ ) nos blends, os quais se apresentaram mais escuros que os extratos em separado, indicando assim, de acordo com Zhao *et al.* (2020), um possível efeito hipercrômico, bem como o aumento do máximo de absorção visível para comprimentos de ondas mais longos (efeito batacrômico), como ocorrem em vinhos copigmentados que apresentam cor mais escura e tons mais roxos. Este efeito de copigmentação pode ter se dado por conta do pH dos blends, uma vez que, de acordo com (Ngamwonglumlert *et al.*, 2017), as betalaínas em condições muito ácidas (pH < 3) tendem a mudar sua coloração de vermelho aniônico para violeta catiônico, de maneira tal que, por apresentar forma catiônica, as betalaínas podem ter copigmentado as antocianinas por meio de ligações iônicas (copigmentação intermolecular). Ademais, frente ao pH dos blends, de valores abaixo de 3 (condições ácidas) e, sabendo que as betalaínas nestas condições apresentam cor violeta em pH abaixo de 3 e que as antocianinas apresentam cor vermelha, confirma-se que a junção destes dois pigmentos deram origem a blends com coloração vermelho-púrpura.

# 6.3 Caracterização dos compostos bioativos nos extratos e blends de antocianinas de hibisco e betalaínas de beterraba

Os valores para teor de betalaínas, antocianinas e compostos fenólicos para os extratos ECBB e ECAH e blends A, B e C, encontram-se dispostos na Tabela 4. Nos blends foram analisados tanto os teores de betalaínas como de antocianinas, mas no caso dos extratos o teor de betalaínas foi analisado apenas para o ECBB e o teor de antocianinas apenas para o ECAH. É possível verificar na Tabela 4 que em cada um dos parâmetros analisados, tanto os extratos quanto os blends apresentaram diferença significativa ao nível de 5% de significância.

**Tabela 4.** Teor de betalaínas, antocianinas e compostos fenólicos dos extratos e blends

Tratamentos	BETALAÍNAS	ANTOCIANINAS	TPC*
	(mg/100g)	(mg cianidina-3- glicosídeo/100g)	mg EAG/g de matéria seca
ECBB	56,734±0,180°a	-	82,184±1,163 <sup>e</sup>
<b>ECAH</b>	-	154,075±5,987 a	218,934±0,800 a
BLEND A	25,663±0,776 <sup>b</sup>	$23,579\pm1,556^{d}$	115,632±1,997 <sup>d</sup>
BLEND B	$17,789\pm0,110^{\circ}$	69,913±3,790°	159,291±3,275 °
BLEND C	14,889±0,163 <sup>d</sup>	123,516±3,239 <sup>b</sup>	$209,991\pm3,248^{b}$

Os valores representam a média de 3 repetições ± desvio padrão. Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a probabilidade de 5%. \*TPC = compostos fenólicos totais. ECAH: extrato concentrado de antocianinas de hibisco, Blend A: 75% ECBB + 25% ECAH; Blend B: 50% ECBB + 50% ECAH; Blend C: 25% ECBB + 75% ECAH.

As betalaínas do ECBB apresentaram teor de 56,734 mg/100g, este encontra-se dentro das faixas encontradas por Prieto-Santiago *et al.* (2020), que apresentou teor de betalaínas entre 14,78 mg/100 g e 86,88 mg/100 g e por Righi Pessoa da Silva *et al.* (2018), que apresentou teores entre 13 mg/100g e 713 mg/100g, este realizou extrações variando o percentual de etanol e observou que o aumento do percentual de etanol reduziu o teor de betalaínas nos extratos de beterraba, sendo o menor conteúdo de betalaínas encontrado nas extrações com etanol 100%. Porém, o teor de betalaínas do ECBB apresentou-se menor que o encontrado em estudo realizado por Cardoso-Ugarte *et al.* (2014), que apresentou valores para conteúdo de betanina (principal betacianina da beterraba) entre 122,90 mg/100g e 128,68 mg/100g. As diferenças dos valores podem ser explicadas devido aos tratamentos aplicados a matéria-prima, como a liofilização da beterraba realizada por Cardoso-Ugarte *et al.* (2014), que por utilizar o frio para secagem, pode ter promovido a manutenção do conteúdo de betalaínas presentes, assim como condições de extração aplicadas em cada trabalho, além dos fatores ligados ao cultivo do vegetal, como clima, tipo de solo, incidência solar, dentre outros.

Scatterplot: % de ECBB vs. Teor de Betalaínas (mg/100g) (Casewise MD deletion) Teor de Betalaínas (mg/100g) = 8,6725 + ,21549 \* % de ECBB Correlation: r = .96296 28 26 Blend A Teor de Betalaínas (mg/100g) Blend B Blend C 14 20 30 40 50 % de ECBB 0,95 Conf.Int.

**Figura 13.** Correlação entre percentual (%) de ECBB (extrato concentrado de betalaínas de beterraba) e teor de betalaínas nos blends

Ao analisar o teor de betalaínas nos blends na Tabela 4, observa-se que o blend A por possuir maior percentual de ECBB (75%) apresentou maior teor de betalaínas, seguido do blend B (50% de ECBB) e blend C (25% de ECBB). Logo, foi possível observar que o teor de betalaínas dos blends apresentou uma correlação positiva (+0,963) com o percentual de ECBB, de modo que quanto maior o percentual de ECBB maior o teor de betalaínas, como pode ser observado na Figura 13.

No caso das antocianinas, o ECAH apresentou teor de antocianinas 154,075 ±5,987 mg / 100 g de cálices secos, valor este dentro do encontrado por Kurtulbaş *et al.* (2022), que apresentou valores entre 0,82 e 3,12 ± 0,01 mg de cianidina-3-glicosídeo/g de cálices (82 a 312 mg/100g). Porém, o valor do teor de antocianinas no ECAH encontra-se abaixo do encontrado por Idham *et al.* (2021), que apresentou teores de antocianinas em extratos de *Hibiscus sabdariffa* variando de 215,22 ± 0,97 a 1494,62±0,77 mg de cianidina-3-glicosídeo/ 100 g de cálices secos. Contudo, esta variação dos valores encontrados para o teor de antocianinas em extratos de hibisco pode ocorrer devido ao tipo de cultivar utilizado, ao estágio de maturação e pelo tipo de extração utilizada (Maciel *et al.*, 2018). No caso dos blends A, B e C os teores de antocianinas apresentaram aumento à medida que o conteúdo de ECAH aumentou, com teores de 23,579±1,556, 69,913±3,790 e 123,516±3,239mg cianidina-3-glicosídeo/100g de cálices secos, respectivamente. Com isso, é possível observar que o blend C que é composto por 75% de ECAH, apresentou teor de antocianinas próximo ao do ECAH puro (154,075 ±5,987 mg de cianidina-3-glicosídeo/ 100 g de cálices secos). Além disso, o percentual de ECAH apresentou correlação positiva significativa (+0,9973) com o teor de antocianinas dos blends (Figura 14).

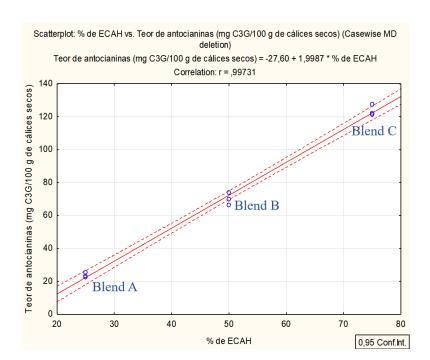


Figura 14. Correlação entre percentual de ECAH e teor de antocianinas nos blends.

Além dos pigmentos betalaínas e antocianinas, os extratos concentrados de beterraba e de hibisco apresentaram relevante conteúdo de compostos fenólicos totais (TPC). O ECBB apresentou conteúdo de TPC de  $82,184^{\rm e}\pm1,163$  mg EAG/g de matéria seca, valor condizente ao encontrado por Ferreira *et al.* (2021) em extrato de beterraba concentrado ( $82,391\pm17,356$  mg EAG/g). O valor obtido no presente estudo encontra-se acima dos valores obtidos por Righi Pessoa da Silva *et al.* (2018) e Tutunchi *et al.* (2019), que apresentaram valores variando entre  $53,34\pm0,112$  e  $65,62\pm0,135$  mg EAG/g; e  $9,53\pm1,08$  e  $20,03\pm1,28$  mg EAG/g de matéria seca, respectivamente.

No ECAH, o conteúdo de compostos fenólicos totais, foi de 218,934 ± 0,800 mg EAG/g de matéria seca, este está abaixo da faixa de 454,66 ± 9,08 e 474,09 ± 4,39 mg EAG/g encontrada para extrato metílico de *Hibiscus sabdariffa* por Formagio *et al.* (2015), ambos os conteúdos de TPC encontram-se acima dos valores máximos obtidos por Alañón *et al.* (2020), Borrás-Linares *et al.* (2015), Kalla *et al.* (2015) e Şahin *et al.* (2021), de 37,25 ± 0,05 mg EAG/g, 100 ± 4 mg EAG/g, 32,893 ± 0,319 g EAG/Kg e 23,42 ± 0,004 mg EAG/g. Diante do exposto, de acordo com Formagio et al. (2015) e Kalla et al. (2015), é possível inferir que as diferenças nos conteúdos de TPC nos extratos de hibisco (*Hibiscus sabdariffa*), ocorrem devido diferença de região de cultivo uma vez que cada uma tem seu tipo de manejo agrícola, fatores genéticos, condições ambientais, variedade da planta e grau de maturação, propriedades do solo e época da colheita, como também são influenciados pelo tipo de solvente e procedimento de extração utilizado

No caso dos blends A, B e C, estes apresentaram conteúdo de TPC de 115,632 ± 1,997, 159,291 ± 3,275 e 209,991 ± 3,248 mg EAG/g de matéria seca, respectivamente. Analisando os dados presentes na Tabela 4, é possível observar uma relação entre o conteúdo de antocianinas dos blends e o conteúdo de TCP. Realizando análise de correlação entre o conteúdo de antocianinas presentes em cada blend e o conteúdo de TPC, obteve-se correlação positiva com um r de 0,997029 (p>0,05), o que indica alta correlação entre esses dois parâmetros analisados. Desta forma, como pode ser observado no Figura 15, a medida em que nos blends ocorreu aumento do conteúdo de antocianinas, houve aumento do conteúdo de TPC.

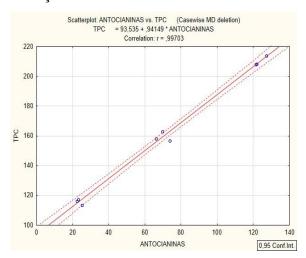


Figura 15. Correlação dos conteúdos de antocianinas e TPC dos blends.

# 6.4 Atividade antioxidante por DPPH e FRAP nos extratos e blends de antocianinas de hibisco e betalaínas de beterraba

Os dados de atividade antioxidante pelos métodos de sequestro de radicais DPPH e FRAP, ambos são baseados na doação de elétrons dos antioxidantes, para os extratos e blends de antocianinas de hibisco e betalaínas de beterraba, encontram-se dispostos na Tabela 5.

**Tabela 5.** Atividade antioxidante dos extratos e blends de antocianinas de hibisco e betalaínas de beterraba, por meio dos ensaios DPPH• e FRAP.

Tratamentos	DPPH•	FRAP		
Tratamentos	(% inibição)	(μM de Sulfato Ferroso/g de matéria seca)		
ECBB	$56,704 \pm 6,953$ b	$560,545 \pm 9,816^{\mathrm{e}}$		
ECAH	$67{,}529 \pm 5{,}252^{ab}$	$7047,582 \pm 93,104^{a}$		
<i>BLEND</i> A	$68,965 \pm 12,019$ ab	$2674,539 \pm 25,263$ d		
BLEND B	$75,624 \pm 4,266$ a	$5022,114 \pm 19,753$ °		
<i>BLEND</i> C	$70{,}727 \pm 2{,}399^{ab}$	$6838,110 \pm 113,602^{b}$		

Os valores representam a média de 3 repetições ± desvio padrão. Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a probabilidade de 5%. ECBB: extrato concentrado de betalaínas de beterraba; ECAH: extrato concentrado de antocianinas de hibisco; Blend A: 75% ECBB + 25% ECAH; Blend B: 50% ECBB + 50% ECAH; Blend C: 25% ECBB + 75% ECAH.

Avaliando a atividade antioxidante dos extratos e blends de antocianinas de hibisco e betalaínas de beterraba pelo método de DPPH•, observa-se que o ECBB e o blend B foram os únicos que diferiram estatisticamente, com o primeiro apresentando o menor percentual de inibição (56,704%) e o segundo o maior percentual de inibição (75,624%), esta diferença pode ser evidenciada pela ação das antocianinas presentes no blend B.

O ECBB apresentou um bom percentual de inibição do radical DPPH• (56,704%), estando dentro da faixa de 44,01 – 86,34%, encontrada por Kushwaha *et al.* (2018), bem como pela encontrada por Farghaly *et al.* (2019), 10,84 - 85.60%. O potencial de atividade antioxidante em beterrabas vermelhas depende dos teores de betalaínas e compostos fenólicos, com as betalaínas apresentando melhor capacidade de redução de íons metálicos que os compostos fenólicos, contudo estes por sua vez apresentam maior capacidade de sequestro de radicais livres (Chhikara *et al.*, 2019). Avaliando o ECAH, este apresentou a capacidade de redução de 67,529% do radical DPPH•, valor superior ao encontrado por Samadi & Raouf Fard (2020) para extrato etanólico de hibisco (55,789%), e dentro do encontrado por Maciel *et al.* (2018) e Kurtulbaş *et al.* (2022), que apresentaram percentuais de inibição entre 62,0 – 67,1% e 38,96 – 88,39%, respectivamente. O bom potencial antioxidante do ECAH está atrelado aos altos teores de antocianinas e compostos fenólicos do mesmo, uma vez que estes compostos apresentam junto com flavonoides, ácidos fenólicos e orgânicos, associação com atividade antioxidante *in vitro* e *in vivo* de extratos de *Hibiscus sabdariffa* (Maciel *et al.*, 2018).

Nos blends A, B e C a capacidade de redução do radical DPPH foram iguais estatisticamente entre si e ao ECAH, apresentanto percentuais de 67,985%, 75,624% e 70,727%, respectivamente. Tais percentuais foram acima do encontrado para o ECBB, evidenciando desta forma a influência que o extrato antociânico de hibisco exerceu sobre os blends, de modo a promover aumento da atividade antioxidante.

Ao avaliar a atividade antioxidante dos extratos e blends de antocianinas de hibisco e betalaínas de beterraba pelo método FRAP, foi possível verificar que todos diferiram estatisticamente entre si (p > 0,05), diferente do que foi verificado no ensaio de DPPH. Desta maneira firma-se a importância da realização de diferentes ensaios antioxidantes para a obtenção de dados mais seguros e conclusivos, visto que cada ensaio apresenta sua própria especificidade e possuem locais de ação determinados.

Nos extratos, o ECAH apresentou maior capacidade antioxidante pelo método FRAP comparado ao ECBB (7047,582 e 560,545 µM de Sulfato Ferroso/g de matéria seca, respectivamente), isto pode ser explicado pelo conteúdo de compostos fenólicos totais, visto que

o ECAH possuir maior teor de fenólicos que o ECBB. O valor encontrado para o ECAH é superior ao encontrado por Fernández-Arroyo *et al.* (2011) para extrato aquoso de Hibiscus sabdariffa (2310,00 μM de Sulfato Ferroso/g), fomentando assim que o extrato etanólico acidificado usado no presente estudo promoveu melhor extração de compostos antioxidantes, um vez que o etanol aumenta a polaridade do meio facilitando a extração de compostos como as antocianinas. Nos blends A, B e C, os valores para atividade antioxidante pelo ensaio FRAP foram de 2674,539; 5022,114 e 68381,101 μM de Sulfato Ferroso/g de matéria seca, respectivamente. A atividade antioxidante dos blends aumentou à medida que o conteúdo de antocianinas aumentou, apresentando correlação positiva com r= 0,89814 (Figura 16).

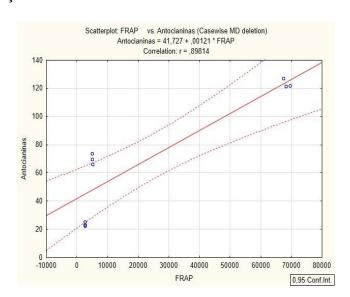


Figura 16. Correlação entre atividade antioxidade FRAP e teor de antocianinas dos blends

De forma geral, observou-se que as misturas dos respectivos extratos mostraram resultados positivos no que se refere a bioatividade dos mesmos e, também, que o extrato antociânico de hibisco possui maior potencial antioxidante, em relação ao extrato de beterraba vermelha, o que proporcionou a um maior incremento no potencial antioxidante dos blends.

# 6.5 Caracterização das microcápsulas dos blends de antocianinas de hibisco e betalaínas de beterraba

## 6.5.1 Propriedades físico-químicas e físicas das microcápsulas

Na Tabela 6, encontram-se apresentados os valores obtidos para os parâmetros umidade, atividade de água, higroscopicidade, molhabilidade e solubilidade das microcápsulas dos blends de extratos de antocianinas de hibisco e betalaínas de beterraba, obtidas por spray drying.

**Tabela 6.** Propriedades físico-químicas e físicas das microcápsulas dos blends de antocianinas de hibisco e betalaínas de beterraba

-	Blends			
_	A	В	C	
Umidade (%)	$3,080 \pm 0,246$ b	$4,150 \pm 0,181$ a	4,257 ± 0,331 a	
Atividade de água (aw)	$0,165 \pm 0,015$ a	$0{,}186 \pm 0{,}007$ a	$0{,}166 \pm 0{,}005$ a	
Higroscopicidade (%)	$13,606 \pm 0,140$ a	$13,729 \pm 0,247$ a	$13,607 \pm 0,178$ a	
Molhabilidade (min)	$12,19 \pm 0,05$ °	$18{,}16 \pm 0{,}20^{b}$	$23,24 \pm 2,45$ a	
Solubilidade (%)	$72,219 \pm 0,750$ a	$69,380 \pm 1,747^{\text{ b}}$	72,663 ± 0,266 a	

Os valores representam a média de 3 repetições ± desvio padrão. Médias seguidas da mesma letra, na linha, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a probabilidade de 5%. ECBB: extrato concentrado de betalaínas de beterraba; ECAH: extrato concentrado de antocianinas de hibisco; Blend A: 75% ECBB + 25% ECAH; Blend B: 50% ECBB + 50% ECAH; Blend C: 25% ECBB + 75% ECAH.

#### 6.5.1.1 Umidade e atividade de água

Os teores de umidade das microcápsulas dos blends apresentaram valores abaixo de 5%, permitindo concluir que a secagem por *spray drying* foi eficiente para a obtenção de produtos estáveis, que de acordo com Aziz *et al.*, (2018) e Dewi *et al.* (2016) devem apresentar teores abaixo de 5% para garantir tanto a seguridade microbiológica, como permitir melhor estabilidade físico-química durante o armazenamento. Analisando estatisticamente, o blend A (3,080%) diferiu dos blends B e C (4,150% e 4,257%, respectivamente), apresentando menor teor de umidade que os demais isto pode ter sido ocasionado pela melhor interação entre a maltodextrina e o blend A, visto que usou-se maltodextrina de baixo equivalente dextrose para o encapsulamento (10 DE) e que de acordo com o observado em estudo realizado por Rodríguez-Hernández *et al.* (2005) na microencapsulação de suco de pêra de cacto, onde maltodextrinas de menor DE apresentaram melhor ação ligante que as maltodextrinas de maior DE.

Outro parâmetro de grande importância para produtos alimentícios secos é a atividade de água, no presente estudo as microcápsulas dos blends A, B e C apresentaram valores de atividade de água de  $0,165,\,0,186$  e 0,166, respectivamente, as mesmas não diferiram estatisticamente entre si (p < 0,05), tais valores são menores que o encontrado por Rocha *et al.* (2019) nas microcápsulas de misturas de extratos fenólicos obtidas com maltodextrina 10 DE (aW = 0,447), e valores semelhantes ao encontrado por Cid-Ortega

& Guerrero-Beltrán (2020) para as microcápsulas de extrato de hibisco com maltodextrina (9-14DE) que variaram entre 0,153 e 0,173. A atividade de água das microcápsulas dos blends indicam que as mesmas são consideradas estáveis em relação a contaminação microbiana, uma vez que apresentaram valores abaixo de 0,6. Além disso, tais valores propiciam o retardo de reações não enzimáticas de escurecimento, redução de problemas de aglomeração das microcápsulas e melhora na estabilidade físico-química (Mahdi *et al.*, 2020; Rocha *et al.*, 2019).

#### 6.5.1.2 Higroscopicidade

A higroscopicidade das microcápsulas dos blends A, B e C, apresentaram valores de 13,606%, 13,729% e 13,607%, respectivamente, estes não diferiram estatisticamente a um nível de 5% de significância, e podem ser classificados como ligeiramente higroscópicos, de acordo com a classificação de GEA Niro Research Laboratory (2003), que determina que pós obtidos por secagem por pulverização podem ser classificados em não higroscópicos (< 10%), ligeiramente higroscópicos (10,1 – 15%), higroscópicos (15,1 -20%), muito higroscópicos (20,1 -25%) e extremamente higroscópico (> 25%). Valores semelhante foram encontrados por Ibrahim Silva et al. (2013) para extrato de jaboticaba microencapsulado com maltodextrina 10 DE com higroscopicidade variando entre 13,85  $\pm$  0,01% e 14,81  $\pm$  0,73%. Valores semelhantes também foram encontrados em microcápsulas obtidas com maltodextrina 10 DE como agente encapsulante, por Lima et al. (2019) que encontraram valor de  $13,07 \pm 0,74\%$  em microcápsulas de antocianinas de juçara (Euterpe edulis Martius) e Shaaruddin et al. (2017) que apresentou valor de 14,12 ± 0.06% para pós de betanina de pitaia. A avaliação deste parâmetro é de fundamental importância para os pós, pois este afeta diretamente a estabilidade físico-química, vida útil e parâmetros como fluidez em pós secos por pulverização (Sarabandi et al., 2019).

Outro fator que pode ter influenciado diretamente os resultados encontrados para este parâmetro, foi o uso da maltodextrina 10 DE para obtenção das microcápsulas dos blends, a qual apresentou-se como um eficiente agente encapsulante neste estudo, bem como em estudo observado por Cai & Corke (2000), em pós de betacianina com maltodextrina 10 DE. Os autores observaram que ao utilizar a maltodextrina com esse grau de hidrólise, as microcápsulas apresentaram uma menor higroscopicidade, quando comparadas a maltodextrinas de maiores DE. Ainda de acordo com os autores, esta capacidade de reduzir a higroscopicidade em produtos secos por pulverização, ocorre pelo fato da

maltodextrina 10 DE apresentar poucos grupos hidrofílicos e menor grau de hidrólise, o que consequentemente faz como que a mesma adsorve menos água.

#### 6.5.1.3 Molhabilidade

Os valores para molhabilidade das microcápsulas dos blends A, B e C foram de 12,19 ± 0,05, 18,16 ± 0,20 e 23,24 ± 2,45 minutos, respectivamente, as mesmas diferiram entre si ao nível de 5% de significância, tal diferença ocorre devido a relação com a umidade das microcápsulas, onde as que apresentaram menor umidade tendem a se hidratar mais facilmente. Os valores de molhabilidade foram grandes, bem como o apresentado por Teo *et al.* (2021), quando utilizada maltodextrina como agente encapsulante (14,3 a 27,6 minutos) e Caliskan & Nur Dirim (2013) em extrato de sumagre seco por pulverização (21,05 a 54,38 min) preparado com maltodextrina em diferentes temperaturas. Os tempos de molhabilidade do presente estudo são superiores ao encontrado por Rocha *et al.* (2019) nas microcápsulas de misturas de extratos fenólicos obtidas com maltodextrina 10 DE (1,24 a 5,32 min).

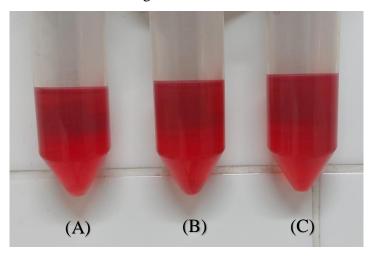
As diferenças nos tempos de molhabilidade de pós secos por pulverização podem ser justificadas pela influência de fatores como materiais de parede, temperatura de entrada, teor de umidade e tamanho das partículas (Sarabandi *et al.*, 2019). O uso de maltodextrina 10 DE provavelmente levou a tempos elevados de molhabilidade das microcápsulas, devido a mesma possuir poucos grupos hidrofílicos, o que promove uma menor capacidade de se ligar a água. Por outro lado, a molhabilidade é inversamente proporcional ao tamanho das partículas, de modo que partículas maiores podem ser facilmente hidratadas (molhadas) devido a presença de maior espaço entre elas, diferente do que ocorre com partículas menores que tendem a serem menos porosas e menores espaços entre elas, o que aumenta a resistência a penetração de líquido na matriz alimentar por capilaridade (Santhalakshmy *et al.*, 2015).

#### 6.5.1.4 Solubilidade

Os valores para solubilidade das microcápsulas dos blends A, B e C (Figura 17) apresentaram os valores de  $72,219 \pm 0,750$ ,  $69,380 \pm 1,747$  e  $72,663 \pm 0,266$  %, respectivamente. O blend B apresentou diferença significativa dos blends A e C, que não diferiram entre si, contudo apresentaram valores próximos. Os valores de solubilidade permitem classificar as microcápsulas dos blends como relativamente solúveis em água. Tais valores, são semelhantes aos encontrados por Lourenço *et al.* (2020), para extrato de

abacaxi microencapsulado com maltodextrina ( $68,15 \pm 0,78$  e  $71,00 \pm 1,41$ ), de acordo com os autores, a solubilidade, assim como a molhabilidade, é influenciada por fatores como área superficial e tamanho das partículas, presença de substância anfipática e sua estrutura química. Ademais, a facilidade de imersão em água é maior para partículas maiores, mas quando há formação de partículas pequenas estas tendem a flutuar na superfície da água, apresentando menor molhabilidade (maior tempo na superfície da água) e menor solubilidade, características de microcápsulas produzidas em baixa temperatura de ar de entrada (150 °C).

**Figura 17.** Blend's de antocianinas de hibisco e betalaínas de beterraba solubilizados em água destilada



Fonte: Autora (2022). (A) Blend A: 75% ECBB + 25% ECAH; (B) Blend B: 50% ECBB + 50% ECAH; (C) Blend C: 25% ECBB + 75% ECAH

Em resumo, os parâmetros físico-químicos avaliados (umidade, atividade de água, higroscopicidade, molhabilidade e solubilidade) são de grande importância para definir se as microcápsulas obtidas apresentam boas características para aplicação em alimentos. No presente estudo, o uso da maltodextrina 10 DE promoveu nas microcápsulas a capacidade de serem ligeiramente higroscópicas, o que junto a baixa umidade e atividade de água, promovem a produção de microcápsulas físico-quimicamente estáveis e menos susceptíveis ao ataque microbiológico durante o armazenamento. A molhabilidade e a solubilidade são propriedades importantes que avaliam a capacidade de reconstituição de pós (Mahdi *et al.*, 2020; Santhalakshmy *et al.*, 2015). Deste modo, a partir dos dados obtidos, é possível inferir que as microcápsulas obtidas com uso de maltodextrina 10 DE, concedeu as mesmas boas características de reconstituição, visto que, mesmo apresentando um tempo maior de molhabilidade, possivelmente devido à presença de

poucos grupos hidrofílicos e serem relativamente solúveis, as microcápsulas podem ser utilizadas na produção de alimentos sem causar tantas dificuldades de processamento, como grandes perdas econômicas. Somado a isso, os blends, quando solubilizados, apresentaram a olho nu características de cor semelhantes (Figura 17), com isso todos os blends poderão ser utilizados como corantes em base aquosa.

#### 6.5.2 Análise da cor das microcápsulas

Os dados das coordenadas de cor  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  e ângulo hue ( $h^o$ ) e croma ( $C^*$ ) para as microcápsulas em pó e reconstituídas estão dispostos na Tabela 7. Os valores dos parâmetros de cor avaliados nas microcápsulas dos blends A, B e C, apresentaram-se diferentes estatisticamente, a um nível de 5%. Neste estudo, utilizou-se maltodextrina (10 DE) como agente encapsulante (pó de cor branca) e blends de antocianinas de hibisco e betalaínas de beterraba que apresentam cor vermelho-púrpura, o que consequentemente originou pós de cor vermelho-púrpura brilhante (Figura 17).

Na coordenada *L\** (luminosidade) nos blends A, B e C apresentaram valores de 72,13, 70,11 e 66,51, respectivamente, indicando que o blend C é o que apresenta-se mais escuro, seguido do blend B e com o blend A sendo o mais claro. Tais características de luminosidade eram esperadas, uma vez que antes do processo de secagem os blends B e C apresentaram-se mais escuros que o blend A, contudo houve um incremento na luminosidade quando avaliadas as microcápsulas, sendo este advindo do uso da maltodextrina a uma concentração de 27% na solução de alimentação. Aguilar-Tuesta *et al.* (2018) ao avaliar o processo de microencapsulação de betacianina de extrato de quinoa orgânica colorida, verificou que houve influência das concentrações de maltodextrina (10, 20 e 30%) nos valores de *L\** das microcápsulas, de modo que estes aumentavam a medida que a concentração de maltodextrina aumentava. O mesmo também foi verificado por Caliskan & Nur Dirim (2013) ao microencapsular antocianinas de extrato de sumagre que para concentração de maltodextrina em 25% apresentou valores de *L\** entre 70,79 e 72,13.

Outro fator de grande influência na luminosidade é a concentração dos pigmentos de antocianinas e betalaínas nos blends, de modo que foi possível verificar que no processo de microencapsulação os valores de  $L^*$  reduziram com o aumento do conteúdo de extrato concentrado de antocianinas de hibisco (ECAH) e redução o conteúdo de extrato concentrado de betalaínas de beterraba (ECBB), que levou a formação de pós mais

escuros. As microcápsulas dos blends A, B e C reconstituídos apresentaram valores de L\* de 27,72, 25,66 e 24,24 ± 1,40, respectivamente, valores estes próximos aos observados nos blends puros (Tabela 3), sendo assim mesmo com o uso da maltodextrina as características de luminosidade forma mantidas pelas soluções de pó reconstituídas. Os valores das coordenadas a\* e b\* para as microcápsulas dos blends apresentaram diferenças estatísticas entre si. A coordenada a\*, que mede a tendência da cor para o vermelho e verde (+a\* vermelho e -a\* verde), indicou uma tonalidade vermelha para as microcápsulas de todos os blends, o que se deve aos extratos concentrados de antocianinas de hibisco e betalaínas de beterraba, contudo é possível verificar que o tom de vermelho aumentou à medida que se aumentou o conteúdo de ECAH nos blends. Já a coordenada b\*, que mede a tendência para o amarelo e azul (+b\* amarelo e -b\* azul), mostrou uma fraca tonalidade das amostras em direção ao amarelo. Após a reconstituição das microcápsulas, os valores para as coordenadas a\* e b\* do blend A diferiram dos blends B e C, que não diferiram entre si, indicando maior tonalidade de vermelho pra os blends B e C (34,14 e 34,89, respectivamente). Além disso, a reconstituição das microcápsulas deu origem a soluções com maior tom de cor vermelha que nos blends puros, mostrando que o processo de microencapsulação promoveu maior concentração dos pigmentos vermelhos presentes no ECAH e ECBB.

O ângulo hue ( $h^o$ ), atributo que expressa a tonalidade da cor, apresentou valores de 0,16°, 0,10° e 0,13° para os blends A, B e C, nesta ordem, estes apresentaram diferença significativa entre si (p< 0,05). Tais valores encontram-se abaixo de 10°, que de acordo com o estabelecido por Prieto-Santiago  $et\ al.$  (2020) indicam que as microcápsulas apresentam tonalidade vermelho-púrpura, com as microcápsulas do blend B apresentando maior tonalidade, seguido do blend C e blend A. Quando realizada a reconstituição das microcápsulas dos blends, todos apresentaram valores de  $h^o$  abaixo de 10°, apresentando assim como as microcápsulas tonalidade vermelho-púrpura, contudo os blends B e C diferiram do blend A, que apresentou maior valor de  $h^o$ , indicando que o mesmo apresentou tonalidade mais clara que os blends B e C que apresentaram tonalidades semelhantes.

Os valores de chroma (C\*) indicam a intensidade ou saturação da cor das microcápsulas dos blends A, B e C, que apresentaram diferença significativa entre si, de modo que foi possível verificar aumento significativo nos valores do C\* nas microcápsulas à medida que aumentou-se o conteúdo de ECAH nos blends, indicando

grande influência do conteúdo de antocianinas na intensidade da cor, com isso as microcápsulas do blend C apresentaram maior intensidade de cor (41,04), seguido dos blends B (34,33) e A (28,83) (Figura 18).

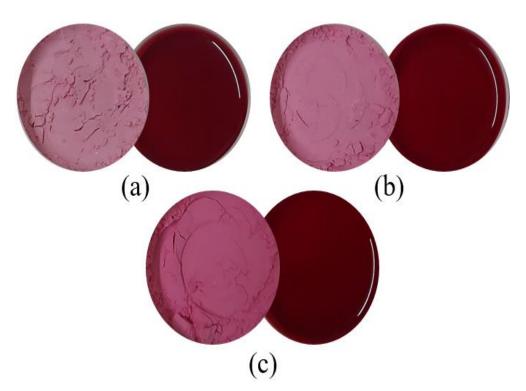


Figura 18. Cor das microcápsulas em pó e reconstituídas

(a) Blend A (75% ECBB + 25% ECAH); (b) Blend B (50% ECBB + 50% ECAH); (c) Blend C (25% ECBB + 75% ECAH)

Porém, quando as microcápsulas foram reconstituídas, os blends B e C não diferiram entre si, mas ambos apresentaram diferença em relação ao blend A, que apresentou chroma de 34,46, inferior aos chormas dos blends B e C, que obtiveram valores de 36,02 e 36,73. Logo, os blends B e C apresentam maior intensidade de cor percebida a olho nu. Ainda, quando comparados os valores do chroma das microcápsulas reconstituídas e os chromas dos blends puros, o processo de secagem por spray dryer com maltodextrina 10 DE promoveu um incremento na intensidade da cor, que pode ser advindo tanto da interação entre os pigmentos de antocianinas e betalaínas presentes nos blends pela ação da copigmentação, tanto pela concentração destes pigmentos.

Tabela 7. Análise de cor das microcápsulas em pó

_	Blend A		Blend B		Blend C	
-	Microcápsulas	Reconstituído	Microcápsulas	Reconstituído	Microcápsulas	Reconstituído
$L^*$	$72,13 \pm 0,07^{a}$	$27,72 \pm 0,26^{A}$	$70,11 \pm 0,57^{b}$	$25,66 \pm 0,09^{AB}$	$66,51 \pm 0,35^{c}$	$24,24 \pm 1,40^{B}$
$a^*$	$28,44 \pm 0,17^{c}$	$30{,}77 \pm 0{,}75^{\mathrm{B}}$	$34,15 \pm 0,37^{b}$	$34,14 \pm 0,25^{A}$	$40,67 \pm 0,31^{a}$	$34,89 \pm 0,62^{A}$
$b^*$	$4,73 \pm 0,06^{b}$	$15,50 \pm 0,41^{A}$	$3,54 \pm 0,14^{\circ}$	$11,47 \pm 0,17^{\mathrm{B}}$	$5,49 \pm 0,23^{a}$	$11,42 \pm 1,27^{\mathrm{B}}$
$h^o$	$0.16 \pm 0.00^{a}$	$0,47 \pm 0,00^{A}$	$0.10 \pm 0.00^{\circ}$	$0.32 \pm 0.00^{B}$	$0.13 \pm 0.00^{b}$	$0.32 \pm 0.04^{B}$
С	$28,83 \pm 0,18^{c}$	$34,46 \pm 0,84^{B}$	$34,33 \pm 0,36^{b}$	$36,02 \pm 0,26^{A}$	$41,04 \pm 0,33^{a}$	$36,73 \pm 0,33^{A}$

Os valores representam a média de 3 repetições ± desvio padrão. Médias seguidas da mesma letra minúscula na linha, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a probabilidade de 5%. Médias seguidas da mesma letra maiúscula para pó reconstituído na linha, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a probabilidade de 5%. Blend A: 75% ECBB + 25% ECAH; Blend B: 50% ECBB + 50% ECAH; Blend C: 25% ECBB + 75% ECAH.

A partir da análise de solubilidade dos pós, foi possível observar que houve uma possível copigmentação das antocianinas tanto por ação das betalaínas, como foi inferido nos blends líquidos, como pelo uso de maltodextrina como agente encapsulante, ao submeter tais soluções à temperatura de 105 °C por 5 horas. De acordo com a Figura 19, o blend A que apresentava 75% de extrato concentrado de betalaínas de beterraba apresentou degradação da cor, saindo do vermelho-púrpura para o amarelo, desta forma não é possível inferir uma possível copigmentação das betalaínas por ação das antocianinas, uma vez que a houve perda de cor. Porém nos blend B (50 % de ECAH + 50% de ECBB) e C (75% ECAH + 25% ECBB) foi possível observar que houve uma manutenção da cor, principalmente no blend C, quando expostos a temperatura de 105 °C por 5 horas. Com isso, ficou mais evidente a ocorrência de uma possível copigmentação das antocianinas por ação da betalaínas, juntamente com a ação protetora da maltodextrina usada como agente encapsulante, demonstrando o aumento da estabilidade das soluções corante copigmentadas encapsuladas, de tal forma que quando utilizado ECBB em maior ou igual proporção em relação ao ECAH, promove uma melhor estabilidade dos pigmentos frente as condições de secagem.



**Figura 19.** Cor dos pós solubilizados após 5 horas a 105 °C

Fonte: Autora (2022). (A) Blend A: 75% ECBB + 25% ECAH; (B) Blend B: 50% ECBB + 50% ECAH; (C) Blend C: 25% ECBB + 75% ECAH

Além da questão atrelada ao pH das misturas, que foi menos favorável às betalaínas (pH<3) já relatada na presente pesquisa, tais resultados podem ser justificados também pela baixa estabilidade destes pigmentos à altas temperaturas. Segundo Chhikara *et al.* (2019), Coy-Barrera (2020), Otálora *et al.* (2020), a temperatura é o principal fator que afeta a estabilidade das betalaínas, de modo que o incremento na temperatura (>60 °C) leva ao aumento da taxa de degradação, principalmente quando o período de aquecimento é longo, acarretando na perda de cor e capacidade antioxidante. Além disso,

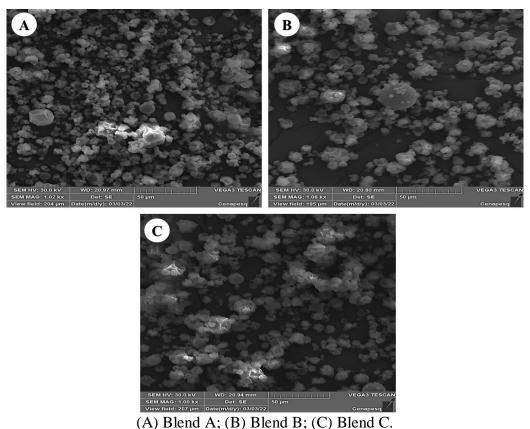
a degradação térmica é dependente da presença de oxigênio, bem como da concentração das betalaínas. Assim, tratamento térmico em betalaínas pode levar a degradação das mesmas por isomerização e/ou descarboxilação, que promovem uma pequena alteração hipsocrômica e hipocrômica, causando o deslocamento da absorção máxima do espectro, atribuindo coloração vermelho-alaranjado as betalaínas. Ademais, as betanina e isobetaninas podem ser desidrogenadas gerando neobetaninas de coloração amarelobrilhante, e hidrolisadas produzindo ácido betalâmico e ciclo-DOPA-5-O-β-glicosídeo como produtos de degradação, que apresentam colorações amarela e incolor, respectivamente.

### 6.5.3 Morfologia das partículas

As características morfológicas das microcápsulas dos blends de antocianinas de hibisco e betalaínas de beterraba obtidas por secagem por pulverização com maltodextrina como agente encapsulante encontram-se na Figura 20. Observa-se que, de modo geral, todas as microcápsulas apresentaram formas esféricas, com superfícies lisas e algumas irregulares, bem como tamanhos diferentes, que são características muitos comuns em produtos obtidos por secagem por pulverização (spray dryer) (Carvalho *et al.*, 2016).

As estruturas das microcápsulas dos blends apresentaram-se semelhantes as microcápsulas obtidas com maltodextrina e outros agentes encapsulantes em estudos de encapsulação de extratos e alimentos ricos em antioxidante, como suco de açaí (R. V. Tonon, 2009), suco de bérberis (Nadali *et al.*, 2021), extrato de *Renealmia alpinia* (Jimenez-Gonzalez *et al.*, 2018) e extrato de juçara (Lima *et al.*, 2019). A presença de superfícies irregulares nas microcápsulas, podem ser devido a altas taxas de evaporação de água durante o processo de secagem por pulverização (Santiago-Adame *et al.*, 2015).

**Figura 20.** Microscopia dos blends de extratos concentrados de antocianinas de hibisco e betalaínas de beterraba microencapsulados por spray dryer utilizando maltodextrina como agente encapsulante



Blend A: 75% ECBB + 25% ECAH; Blend B: 50% ECBB + 50% ECAH; Blend C: 25% ECBB + 75% ECAH.

Grande parte das microcápsulas dos blends apresentaram formas esféricas de superfície lisa, indicando que a maltodextrina apresentou-se como um agente encapsulante adequado (Takeungwongtrakul *et al.*, 2015). Tal característica pode levar a uma maior retenção dos pigmentos de antocianinas e betalaínas, como observado por Carvalho *et al.* (2016). O fato das microcápsulas dos blends de antocianinas de hibisco e betalaínas de beterraba serem classificadas como relativamente solúveis, se deve a presença de microcápsulas tanto com superfícies lisas, como irregulares. No caso das irregulares elas tendem a afetar as propriedades do pó, podendo levar ao aumento da solubilidade e absorção de água pelas microcápsulas, o que pode ser prejudicial a estabilidade do núcleo durante o armazenamento, já que apresentam maiores áreas de contato do que as lisas, tornando-as assim mais susceptíveis a degradação, como a oxidação (Maia *et al.*, 2019; R. V. Tonon, 2009). Logo, de acordo com a morfologia das microcápsulas pode-se concluir que o uso da maltodextrina dentro das condições de

secagem por pulverização aplicadas, neste trabalho, promoveram a formação de microcápsulas com potencial para uso como corante alimentício.

# 6.6 Propriedades funcionais das microcápsulas

A Tabela 8 apresenta os dados obtidos da avaliação das propriedades funcionais das microcápsulas obtidas pelo método de secagem por pulverização, com maltodextrina 10DE como agente encapsulante.

**Tabela 8.** Propriedades funcionais das microcápsulas

	Blends			
	A	В	С	
RA(%)	98,578 ±20,492 <sup>a</sup>	109,834 ± 20,308 a	80,438 ± 9,063 a	
RBc (%)	$114,113 \pm 3,294$ a	$99,955 \pm 6,091^{b}$	$61,015 \pm 61,015^{c}$	
RBx (%)	$128,112 \pm 10,818$ b	$166{,}520 \pm 5{,}845^{a}$	-	
EETP (%)	$90,801 \pm 0,183^{b}$	$90,805 \pm 0,023$ b	$92,177 \pm 0,172^{a}$	

Os valores representam a média de 3 repetições ± desvio padrão. Médias seguidas da mesma letra minúscula na linha, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a probabilidade de 5%. \*RA = retenção de antocianinas; RBc = retenção de betacianinas; RBx = retenção de betacantinas; EETP = eficiência de encapsulamento compostos fenólicos totais. Blend A: 75% ECBB + 25% ECAH; Blend B: 50% ECBB + 50% ECAH; Blend C: 25% ECBB + 75% ECAH.

## 6.6.1 Retenção de antocianinas

Os valores obtidos para retenção de antocianinas nos blends não apresentaram diferença estatística, porém é possível observar que as microcápsulas do blend C (detentor do maior conteúdo de antocianinas) apresentaram o menor percentual de retenção, e as do blend B o maior, sugerindo assim que as betalaínas apresentam efeito protetor sobre as antocianinas, quando utilizados percentuais iguais dos extratos concentrados (blend B - 50% ECAH + 50% ECBB), ou superiores ao percentual de extrato antociânico (blend A - 25% ECAH + 75% ECBB). Por outro lado, todos os blends apresentaram ótimos valores de retenção de antocianinas, o que indica que a maltodextrina 10DE foi eficiente em proteger as antocianinas durante o processo de secagem. O mesmo foi observado por Rocha *et al.* (2019), que obtiveram percentuais de retenção de antocianinas em microcápsulas de misturas de extratos fenólicos obtidas como maltodextrina, proteína do soro do leite e goma arábica (71,63 a 115,31%), bem como por Ibrahim Silva *et al.* (2013), na avaliação da microencapsulação de antocianinas de jabuticaba por maltodextrina, goma arábica e amido modificado (79,92 a 100,23%).

### 6.6.2 Retenção de betacianinas e betaxantinas

Na retenção de betacianinas (RBc), pigmento responsável pela coloração vermelha das betalaínas, os blends A, B e C apresentaram diferença entre eles, sendo os blends A e B os com maior percentual de retenção, os mesmos são compostos por teores de 75 e 50% de extrato de betalaínas de beterraba, respectivamente, logo pode-se concluir que as betacianinas conseguiram se manter estáveis frente ao processo de microencapsulação. No caso do blend C, percentual de retenção de betacianinas abaixo dos demais blends, pode ser justificado pelo fato do mesmo ser composto por apenas 25% de extrato de betalaínas de beterraba e que, quando na presença das antocianinas, as betacianinas podem ter se desestabilizado em virtude do pH do meio, o que provocou degradação das mesmas durante o processo de microencapsulação. Os percentuais de retenção de betacianinas nos blends revelam que a maltodextrina 10 DE como agente encapsulante atuou como bom material de parede evitando que as betalaínas sofressem danos oxidativos durante o processo de secagem, como foi verificado por Bazaria & Kumar (2018) no estudo da otimização de secagem por spray dryer de suco de beterraba, no entanto estes autores encontraram percentuais de retenção de betalaínas entre 61,34 e 70,46%, já Shaaruddin et al. (2017) apresentou retenção de betanina (betacianina de maior conteúdo em beterrabas) de 97,8%, valores estes semelhantes aos encontrados entre os blends microencapsulados. Contudo é importante enfatizar o fato de que no presente trabalho foi utilizado extrato concentrado de betalaínas de beterraba combinado com extrato concentrado de antocianinas de hibisco, ambos apresentam cor vermelho-purpura de modo que durante a análise pode ter ocorrido interferência do espectro das antocianinas sobre as betalaínas e vice-versa.

As betaxantinas são pigmentos de cor amarela das betalaínas, neste estudo foi possível verificar o percentual de retenção destes pigmentos (RBx) apenas nos blends A e B (os quais possuem maiores teores de extrato de betalaínas de beterraba), 128,112% e 166,520%, tais valores são superestimados, contudo é possível inferir que quando o blend apresenta teores iguais para os extratos de betalaínas de beterraba e antocianinas de hibisco (blend B) há uma maior retenção de betaxantinas, visto que ambos diferiram significativamente, com o blend B apresentando maior retenção, de modo que possivelmente as antocianinas presentes podem ter se ligado as betaxantinas promovendo as maiores retenções de ambos os pigmentos, como pode ser verificado nas Tabela 7.

### 6.6.3 Eficiência de encapsulamento pelo teor de compostos fenólicos

Avaliando a eficiência de encapsulamento de compostos fenólicos (EETP), os blends A, B e C apresentaram eficiências em 90,801%, 90,805% e 92,177%, respectivamente. Os blends A e B diferiram estatisticamente do blend C, o qual apresentou maior percentual, contudo todos apresentaram alta eficiência de encapsulamento de compostos fenólicos, apresentando valores dentro do encontrado por Rocha et al. (2019) em microcápsulas de misturas de extratos fenólicos obtidas como maltodextrina, proteína do soro do leite e goma arábica (82,09 a 96,20%). Porém, as eficiências de encapsulação de compostos fenólicos nos blends no presente estudo apresentam-se superiores ao encontrado por Navidad-Murrieta et al. (2020) que na encapsulação de extrato de cálices de Hibiscus sabdariffa "Cruza Negra" com maltodextrina (10 DE) e goma arábica como agentes encapsulante obteve EE(%) entre 80,94 e 88,48%. Robert et al. (2015) ao microencapsular polpa de palma roxa (Opuntia ficus-indica) com maltodextrina, proteína de soja e inulina, por spray dryer obteve eficiências de encapsulação de compostos fenólicos entre 72,8 e 86,5%. No estudo realizado por Tumbas Šaponjac et al. (2016) para encapsulação de extrato de beterraba com proteína de soja como agente encapsulante as eficiências de encapsulamento foram entre 60,26 e 85,03%. Diante dos dados destes estudos, observa-se que extratos fenólicos ricos tanto em antocianinas como em betalaínas quando microencapsulados sozinhos, ou seja, sem a combinação com outro extrato fenólico apresentam eficiências de encapsulamento abaixo de 90%.

Estudos demonstram que o agente encapsulante (transportador), o conteúdo de compostos fenólicos/bioativos e o processo de encapsulação exercem influência sobre a eficiência de encapsulamento, que para considerar uma microencapsulação adequada deve apresentar valores entre 60 e 90% (Navidad-Murrieta *et al.*, 2020; Vishnu *et al.*, 2017). Desta forma, todas as microcápsulas apresentaram valores de eficiência de encapsulação adequados. Além disso, é possível supor que a eficiência de encapsulação no presente estudo apresentou-se superior devido a mistura de compostos fenólicos nos blends de extratos de antocianinas de hibisco e betalaínas de beterraba, que pode ter promovido uma melhor estabilidade dos compostos, juntamente com a maltodextrina (10 DE) que possibilitou um eficiente aprisionamento dos compostos fenólicos dos blends frente as condições da microencapsulação por spray dryer.

### 7 CONCLUSÃO

Diante do presente estudo, em relação aos blends dos extratos concentrados de hibisco e de beterraba vermelha, foi possível obter misturas de extratos com teores de antocianinas e betalaínas de acordo com conteúdo de cada extrato nos blends, de cores atrativas de vermelho a vermelho-púrpura, demostrando, possivelmente, a ocorrência de copigmentação das antocianinas pela ação das betalaínas. Todos os blends apresentaram bons conteúdos de compostos fenólicos, estando estes correlacionados ao conteúdo de antocianinas dos blends, com o blend C (75% ECAH + 25% ECBB) apresentando o maior conteúdo de compostos fenólicos (209,991 mg EAG/ g de matéria seca). O mesmo foi observado também em relação as atividades antioxidantes, pelos métodos de DPPH• e FRAP, cujos os blends apresentaram boas atividades antioxidantes, a medida em que houve um aumento do extrato ECAH.

A microencapsulação dos blends de ECAH e ECBB em maltodextrina 10 DE, deu origem a microcápsulas com boas propriedades de umidade, atividade de água, higroscopicidade, solubilidade e molhabilidade, indicando boas propriedades tecnólogicas. As cores das microcápsulas apresentaram tonalidades vermelho-púrpura brilhante, sendo as obtidas pela microencapsulação do blend C as que apresentaram cor mais intensa.

A produção das microcápsulas dos blends de ECAH e ECBB, apresentaram bons percentuais de retenção de betalaínas (betacianinas e betaxantinas), com os blends A e B apresentando os maiores percentuais. O mesmo foi verificado para retenção de antocianinas, cujos os blends não diferiram estatíticamente entre si. Já em relação a eficiência de encapsulação de compostos fenólicos, as microcápsulas dos blends A, B e C apresentaram altas eficiências com percentuais de 90,801%, 90,805% e 92,177%, respectivamente, indicando que a mistura de compostos fenólicos do ECAH e do ECBB promove a produção de microcápsulas com grande potencial bioativo. Todos os percentuais indicam a boa eficiência da maltodextrina 10DE como agente encapsulante.

As microcápsulas quando solubilizadas e submetidas a tratamento térmico a 105 °C, por um longo período de tempo (5 horas), evidenciaram que em especial no blend C houve a confirmação de que o processo de copigmentação seguido da microencapsulação não só protegeram os pigmentos da degradação como mantiveram a intensidade da cor.

Desta forma, os blends microencapsulados tem grande potencial de aplicação em matrizes alimentícias em que envolvam tratamentos térmicos, sendo então necessário estudos futuros para confirmar este importante achado científico, por meio de estudos que busquem a otimização do processo de microencapsulação destes blends, bem como suas estalibilidades em diferentes tempos e temperaturas.

## REFERÊNCIAS

- Abou-Arab, A. a, Abu-Salem, F. M., & Abou-Arab, E. a. (2011). Physico-chemical properties of natural pigments (anthocyanin) extracted from Roselle calyces (Hibiscus subdariffa). *Journal of American Science*, 7(7), 445–456. http://jofamericanscience.org/journals/am-sci/am0707/067\_6293am0707\_445\_456.pdf
- Aguilar-Tuesta, S., Mamani-Navarro, W., Espinoza-Silva, C., Basilio-Atencio, J., & Condezo-Hoyos, L. (2018). Microencapsulated betacyanin from colored organic quinoa (Chenopodium quinoa Willd.): optimization, physicochemical characterization and accelerated storage stability. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(15), 5873–5883. https://doi.org/10.1002/jsfa.9152
- Alañón, M. E., Ivanović, M., Pimentel-Mora, S., Borrás-Linares, I., Arráez-Román, D., & Segura-Carretero, A. (2020). A novel sustainable approach for the extraction of value-added compounds from Hibiscus sabdariffa L. calyces by natural deep eutectic solvents. *Food Research International*, *137*(August), 109646. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109646
- Ananga, A., Georgiev, V., Ochieng, J., Phills, B., & Tsolova, V. (2013). The Mediterranean Genetic Code Grapevine and Olive. *The Mediterranean Genetic Code Grapevine and Olive, December 2016.* https://doi.org/10.5772/3442
- Anunciação, P. C., Giuffrida, D., Murador, D. C., de Paula Filho, G. X., Dugo, G., & Pinheiro-Sant'Ana, H. M. (2019). Identification and quantification of the native carotenoid composition in fruits from the Brazilian Amazon by HPLC–DAD–APCI/MS. *Journal of Food Composition and Analysis*, 83(August). https://doi.org/10.1016/j.jfca.2019.103296
- Arenas-Jal, M., Suñé-Negre, J. M., & García-Montoya, E. (2020). An overview of microencapsulation in the food industry: opportunities, challenges, and innovations. *European Food Research and Technology*, 246(7), 1371–1382. https://doi.org/10.1007/s00217-020-03496-x
- Assadpour, E., & Jafari, S. M. (2019). Advances in Spray-Drying Encapsulation of Food Bioactive Ingredients: From Microcapsules to Nanocapsules. *Annual Review of Food Science and Technology*, 10, 103–131. https://doi.org/10.1146/annurev-

- food-032818-121641
- Bazaria, B., & Kumar, P. (2018). Optimization of spray drying parameters for beetroot juice powder using response surface methodology (RSM). *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 17(4), 408–415. https://doi.org/10.1016/j.jssas.2016.09.007
- Bendokas, V., Skemiene, K., Trumbeckaite, S., Stanys, V., Passamonti, S., Borutaite, V., & Liobikas, J. (2020). Anthocyanins: From plant pigments to health benefits at mitochondrial level. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(19), 3352–3365. https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1687421
- Borrás-Linares, I., Fernández-Arroyo, S., Arráez-Roman, D., Palmeros-Suárez, P. A., Del Val-Díaz, R., Andrade-Gonzáles, I., Fernández-Gutiérrez, A., Gómez-Leyva, J. F., & Segura-Carretero, A. (2015). Characterization of phenolic compounds, anthocyanidin, antioxidant and antimicrobial activity of 25 varieties of Mexican Roselle (Hibiscus sabdariffa). *Industrial Crops and Products*, 69, 385?394-394. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.02.053
- CAI, Y. Z., & CORKE, H. (2000). Production and Properties of Spray-dried Amaranthus Betacyanin Pigments. *Journal of Sensory and Nutritive Qualities of Food*, 65(3600), 1248–1252.
- Caliskan, G., & Nur Dirim, S. (2013). The effects of the different drying conditions and the amounts of maltodextrin addition during spray drying of sumac extract. *Food and Bioproducts Processing*, *91*(4), 539–548. https://doi.org/10.1016/j.fbp.2013.06.004
- Calva-Estrada, S. J., Jiménez-Fernández, M., & Lugo-Cervantes, E. (2022). Betalains and their applications in food: The current state of processing, stability and future opportunities in the industry. *Food Chemistry: Molecular Sciences*, 4(February). https://doi.org/10.1016/j.fochms.2022.100089
- Cano-Chauca, M., Stringheta, P. C., Ramos, A. M., & Cal-Vidal, J. (2005). Effect of the carriers on the microstructure of mango powder obtained by spray drying and its functional characterization. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 6(4), 420–428. https://doi.org/10.1016/j.ifset.2005.05.003
- Cardoso-Ugarte, G. A., Sosa-Morales, M. E., Ballard, T., Liceaga, A., & San Martín-

- González, M. F. (2014). Microwave-assisted extraction of betalains from red beet (Beta vulgaris). *LWT Food Science and Technology*, *59*(1), 276–282. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.05.025
- Carreón-Hidalgo, J. P., Franco-Vásquez, D. C., Gómez-Linton, D. R., & Pérez-Flores, L. J. (2022). Betalain plant sources, biosynthesis, extraction, stability enhancement methods, bioactivity, and applications. *Food Research International*, 151(November 2021). https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110821
- Carvalho, A. G. S., Machado, M. T. C., Silva, V. M. S., Sartoratto, A., Rodrigues, R. A. F., & Hubinger, M. D. (2016). Physical properties and morphology of spray dried microparticles containing anthocyanins of jussara (Euterpe edulis Martius) extract. *Powder Technology*, 294, 421–428. https://doi.org/10.1016/j.powtec.2016.03.007
- Castro-Enríquez, D. D., Montaño-Leyva, B., Del Toro-Sánchez, C. L., Juaréz-Onofre, J. E., Carvajal-Millan, E., Burruel-Ibarra, S. E., Tapia-Hernández, J. A., Barreras-Urbina, C. G., & Rodríguez-Félix, F. (2020). Stabilization of betalains by encapsulation—a review. *Journal of Food Science and Technology*, *57*(5), 1587–1600. https://doi.org/10.1007/s13197-019-04120-x
- Celli, G. B., & Brooks, M. S. L. (2017). Impact of extraction and processing conditions on betalains and comparison of properties with anthocyanins A current review. *Food Research International*, 100, 501–509. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.08.034
- Chhikara, N., Kushwaha, K., Sharma, P., Gat, Y., & Panghal, A. (2019). Bioactive compounds of beetroot and utilization in food processing industry: A critical review. *Food Chemistry*, 272, 192–200. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.022
- Cid-Ortega, S., & Guerrero-Beltrán, J. Á. (2020). Microencapsulation of Hibiscus sabdariffa (Roselle) Extracts by Spray Drying Using Maltodextrin and Gum Arabic as Carriers. *Journal of Food Research*, *9*(5), 53. https://doi.org/10.5539/jfr.v9n5p53
- Constant, P. B. L., & De Freitas, P. A. V. (2021). Betalaínas. In P. C. Stringheta & P. A. V. De Freitas (Eds.), *Corantes naturais: da diversidade da natureza as aplicações e benefícios* (1st ed., Vol. 1, Issue 1).

- Corradini, M. G. (2018). Synthetic food colors. In *Encyclopedia of Food Chemistry*. Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.21606-5
- Coy-Barrera, E. (2020). Analysis of betalains (betacyanins and betaxanthins). *Recent Advances in Natural Products Analysis*, 593–619. https://doi.org/10.1016/b978-0-12-816455-6.00017-2
- de Moura, S. C. S. R., Berling, C. L., Germer, S. P. M., Alvim, I. D., & Hubinger, M. D. (2018). Encapsulating anthocyanins from Hibiscus sabdariffa L. calyces by ionic gelation: Pigment stability during storage of microparticles. *Food Chemistry*, 241(May 2017), 317–327. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.08.095
- Delgado-Vargas, F., Jiménez, A. R., & Paredes-López, O. (2000). Critical Reviews in Food Science and Nutrition Natural Pigments: Carotenoids, Anthocyanins, and Natural Pigments: Carotenoids, Anthocyanins, and Betalains Characteristics, Biosynthesis, Processing, and Stability. In *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* (Issue 3). https://doi.org/10.1080/10408690091189257
- Dilrukshi, P. G. T., Munasinghe, H., Silva, A. B. G., & De Silva, P. G. S. M. (2019). Identification of Synthetic Food Colours in Selected Confectioneries and Beverages in Jaffna District, Sri Lanka. *Journal of Food Quality*, 2019. https://doi.org/10.1155/2019/7453169
- Du, Q., Tang, J., Xu, M., Lyu, F., Zhang, J., Qiu, Y., Liu, J., & Ding, Y. (2021). Whey protein and maltodextrin-stabilized oil-in-water emulsions: Effects of dextrose equivalent. *Food Chemistry*, 339(February 2020), 128094. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128094
- Duchowicz, P. R., Szewczuk, N. A., & Pomilio, A. B. (2019). QSAR studies of the antioxidant activity of anthocyanins. *Journal of Food Science and Technology*, 56(12), 5518–5530. https://doi.org/10.1007/s13197-019-04024-w
- Elias, H. (2018). Detection and quanti fi cation of natural pigments extracted from callus of Echinocereus cinerascens. 6(February 2017), 464–469. https://doi.org/10.1108/PRT-11-2016-0103
- Esquivel, P. (2016). Betalains. *Handbook on Natural Pigments in Food and Beverages: Industrial Applications for Improving Food Color*, 81–99.

  https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100371-8.00004-X

- Estevinho, B. N., & Rocha, F. (2018). Application of Biopolymers in Microencapsulation Processes. In *Biopolymers for Food Design*. Elsevier Inc. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811449-0.00007-4
- Farabegoli, F., Scarpa, E. S., Frati, A., Serafini, G., Papi, A., Spisni, E., Antonini, E., Benedetti, S., & Ninfali, P. (2017). Betalains increase vitexin-2-O-xyloside cytotoxicity in CaCo-2 cancer cells. *Food Chemistry*, *218*, 356–364. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.112
- Farghaly, M. A., Soliman, A. H. S., & Abdellatif, A. S. A. (2019). Evaluation of Red Pigment Extracted from Beetroot. *Current Science International*, *Fig 1*, 930–941. https://doi.org/10.36632/csi/2019.8.4.32
- Fernández-Arroyo, S., Rodríguez-Medina, I. C., Beltrán-Debón, R., Pasini, F., Joven, J., Micol, V., Segura-Carretero, A., & Fernández-Gutiérrez, A. (2011). Quantification of the polyphenolic fraction and in vitro antioxidant and in vivo anti-hyperlipemic activities of Hibiscus sabdariffa aqueous extract. Food Research International, 44(5), 1490–1495. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.03.040
- Fernández-López, J. A., Fernández-Lledó, V., & Angosto, J. M. (2020). New insights into red plant pigments: more than just natural colorants. *The Royal Society of Chemistry*, 24669–24682. https://doi.org/10.1039/d0ra03514a
- Ferreira, L. P. C., Xavier, A. C. R., Santos, J. dos, Wartha, E. R. S. de A., & Pagani, A. A. C. (2021). Microencapsulação de extrato de beterraba (Beta Vulgaris L.) pelo processo de gelificação iônica. *Research, Society and Development*, 10(12), e454101220171. https://doi.org/10.33448/rsd-v10i12.20171
- Formagio, A. S. N., Ramos, D. D., Vieira, M. C., Ramalho, S. R., Silva, M. M., Zárate, N. A. H., Foglio, M. A., & Carvalho, J. E. (2015). Compostos fenólicos de Hibiscus sabdariffa e influência de resíduos orgânicos em sua propriedade antitumoral e antioxidante. *Brazilian Journal of Biology*, 75(1), 69–76. https://doi.org/10.1590/1519-6984.07413
- Frakolaki, G., Giannou, V., Kekos, D., & Tzia, C. (2021). A review of the microencapsulation techniques for the incorporation of probiotic bacteria in functional foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *61*(9), 1515–1536. https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1761773

- Freitas-Sá, D. D. G. C., de Souza, R. C., de Araujo, M. C. P., Borguini, R. G., de Mattos, L. da S., Pacheco, S., & Godoy, R. L. de O. (2018). Effect of jabuticaba (Myrciaria jaboticaba (Vell) O. Berg) and jamelão (Syzygium cumini (L.) Skeels) peel powders as colorants on color-flavor congruence and acceptability of yogurts. *Lwt*, 96(May), 215–221. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.05.024
- Fuchs, M., Turchiuli, C., Bohin, M., Cuvelier, M. E., Ordonnaud, C., Peyrat-Maillard, M. N., & Dumoulin, E. (2006). Encapsulation of oil in powder using spray drying and fluidised bed agglomeration. *Journal of Food Engineering*, 75(1), 27–35. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.03.047
- Furuta, T., & Neoh, T. L. (2021). Microencapsulation of food bioactive components by spray drying: A review. *Drying Technology*, *39*(12), 1800–1831. https://doi.org/10.1080/07373937.2020.1862181
- Galaffu, N., Bortlik, K., & Michel, M. (2015). An industry perspective on natural food colour stability. In *Colour Additives for Foods and Beverages* (Issue 2). Elsevier Ltd. https://doi.org/10.1016/B978-1-78242-011-8.00005-2
- Gençdağ, E., Özdemir, E. E., Demirci, K., Görgüç, A., & Yılmaz, F. M. (2022). Copigmentation and stabilization of anthocyanins using organic molecules and encapsulation techniques. *Current Plant Biology*, 29(August 2021). https://doi.org/10.1016/j.cpb.2022.100238
- Ghosh, S., Sarkar, T., Das, A., & Chakraborty, R. (2022). Natural colorants from plant pigments and their encapsulation: An emerging window for the food industry. *Lwt*, *153*(July 2021), 112527. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112527
- Gukowsky, J. C., Xie, T., Gao, S., Qu, Y., & He, L. (2018). Rapid identification of artificial and natural food colorants with surface enhanced Raman spectroscopy. *Food Control*, 92, 267–275. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.04.058
- Hadipour, E., Taleghani, A., Tayarani-Najaran, N., & Tayarani-Najaran, Z. (2020).

  Biological effects of red beetroot and betalains: A review. *Phytotherapy Research*, 34(8), 1847–1867. https://doi.org/10.1002/ptr.6653
- Han, B., Peng, X., Cheng, D., Zhu, Y., Du, J., Li, J., & Yu, X. (2019). Delphinidin suppresses breast carcinogenesis through the HOTAIR/microRNA-34a axis. *Cancer Science*, *110*(10), 3089–3097. https://doi.org/10.1111/cas.14133

- Hernández Salueña, B., Sáenz Gamasa, C., Diñeiro Rubial, J. M., & Alberdi Odriozola, C. (2019). CIELAB color paths during meat shelf life. *Meat Science*, *157*(April). https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2019.107889
- Hiromoto, P. J. (2018). Extrato de hibisco (Hibiscus sabdariffa L.) como antioxidante natural aplicado em óleo de soja. 78.
- Huang, Y., Zhou, S., Zhao, G., & Ye, F. (2021). Destabilisation and stabilisation of anthocyanins in purple-fleshed sweet potatoes: A review. *Trends in Food Science* and *Technology*, 116(September), 1141–1154. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.09.013
- Ibrahim Silva, P., Stringheta, P. C., Teofilo, R. F., & De Oliveira, I. R. N. (2013). Parameter optimization for spray-drying microencapsulation of jaboticaba (Myrciaria jaboticaba) peel extracts using simultaneous analysis of responses. *Journal of Food Engineering*, 117(4), 538–544. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.08.039
- Idham, Z., Putra, N. R., Aziz, A. H. A., Zaini, A. S., Rasidek, N. A. M., Mili, N., & Yunus, M. A. C. (2021). Improvement of extraction and stability of anthocyanins, the natural red pigment from roselle calyces using supercritical carbon dioxide extraction. *Journal of CO2 Utilization*, 56(November 2021), 101839. https://doi.org/10.1016/j.jcou.2021.101839
- Ifie, I., Ifie, B. E., Ibitoye, D. O., Marshall, L. J., & Williamson, G. (2018). Seasonal variation in Hibiscus sabdariffa (Roselle) calyx phytochemical profile, soluble solids and α-glucosidase inhibition. *Food Chemistry*, *261*(October 2017), 164–168. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.04.052
- Jabeur, I., Pereira, E., Barros, L., Calhelha, R. C., Soković, M., Oliveira, M. B. P. P., & Ferreira, I. C. F. R. (2017). Hibiscus sabdariffa L. as a source of nutrients, bioactive compounds and colouring agents. *Food Research International*, 100(May), 717–723. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.07.073
- Janiszewska-Turak, E., Pisarska, A., & Królczyk, J. B. (2017). Natural food pigments application in food products. *Nauka Przyroda Technologie*, 10(4). https://doi.org/10.17306/j.npt.2016.4.51
- Jiménez-González, O., & Guerrero-Beltrán, J. Á. (2021). Extraction,

- Microencapsulation, Color Properties, and Experimental Design of Natural Pigments Obtained by Spray Drying. In *Food Engineering Reviews* (Vol. 13, Issue 4). Springer US. https://doi.org/10.1007/s12393-021-09288-7
- Jimenez-Gonzalez, O., Ruiz-Espinosa, H., Luna-Guevara, J. J., Ochoa-Velasco, C. E., Luna Vital, D., & Luna-Guevara, M. L. (2018). A potential natural coloring agent with antioxidant properties: Microencapsulates of Renealmia alpinia (Rottb.) Maas fruit pericarp. NFS Journal, 13(May), 1–9. https://doi.org/10.1016/j.nfs.2018.08.001
- Kalla, M. L. M., Jong, E. N., Kayem, J. G., Sreekumar, M. M., & Nisha, P. (2015).
  Effect of re-extraction parameters and drying temperature on the antioxidant properties and dietary fiber of Red sorrel (Hibiscus sabdariffa L.) calyces residues.
  Industrial Crops and Products, 74, 680–688.
  https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.05.028
- Khan, M. I. (2016). Stabilization of betalains: A review. *Food Chemistry*, 197, 1280–1285. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.11.043
- Khan, M. I., & Giridhar, P. (2014). Enhanced chemical stability, chromatic properties and regeneration of betalains in Rivina humilis L. berry juice. *LWT Food Science and Technology*, *58*(2), 649–657. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.03.027
- Kumorkiewicz-Jamro, A., Świergosz, T., Sutor, K., Spórna-Kucab, A., & Wybraniec, S. (2021). Multi-colored shades of betalains: Recent advances in betacyanin chemistry. *Natural Product Reports*, 38(12), 2315–2346. https://doi.org/10.1039/d1np00018g
- Kurtulbaş, E., Pekel, A. G., Bilgin, M., Makris, D. P., & Şahin, S. (2022). Citric acid-based deep eutectic solvent for the anthocyanin recovery from Hibiscus sabdariffa through microwave-assisted extraction. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 12(2), 351–360. https://doi.org/10.1007/s13399-020-00606-3
- Kushwaha, R., Kumar, V., Vyas, G., & Kaur, J. (2018). Optimization of Different Variable for Eco-friendly Extraction of Betalains and Phytochemicals from Beetroot Pomace. *Waste and Biomass Valorization*, *9*(9), 1485–1494. https://doi.org/10.1007/s12649-017-9953-6
- Landim Neves, M. I., Silva, E. K., & Meireles, M. A. A. (2021). Natural blue food

- colorants: Consumer acceptance, current alternatives, trends, challenges, and future strategies. *Trends in Food Science and Technology*, *112*(September 2020), 163–173. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.03.023
- Li, P., Feng, D., Yang, D., Li, X., Sun, J., Wang, G., Tian, L., Jiang, X., & Bai, W. (2021). Protective effects of anthocyanins on neurodegenerative diseases. *Trends in Food Science and Technology*, 117(August 2020), 205–217. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.05.005
- Li, S., Wu, B., Fu, W., & Reddivari, L. (2019). The anti-inflammatory effects of dietary anthocyanins against ulcerative colitis. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(10), 1–18. https://doi.org/10.3390/ijms20102588
- Lima, E. M. F., Madalão, M. C. M., Benincá, D. B., Saraiva, S. H., & Silva, P. I. (2019). Effect of encapsulating agent and drying air temperature on the characteristics of microcapsules of anthocyanins and polyphenols from juçara (Euterpe edulis Martius). *International Food Research Journal*, 26(2), 607–617.
- Lombardelli, C., Benucci, I., & Esti, M. (2021). Novel food colorants from tomatoes: Stability of carotenoid-containing chromoplasts under different storage conditions. *Lwt*, 140(December 2020), 110725. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110725
- Lourenço, S. C., Mold, M., & Alves, V. D. (2020). *Microencapsulation of Pineapple Peel Extract by*. 1–17.
- Maciel, L. G., do Carmo, M. A. V., Azevedo, L., Daguer, H., Molognoni, L., de Almeida, M. M., Granato, D., & Rosso, N. D. (2018). Hibiscus sabdariffa anthocyanins-rich extract: Chemical stability, in vitro antioxidant and antiproliferative activities. *Food and Chemical Toxicology*, 113(November 2017), 187–197. https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.01.053
- Mahdi, A. A., Mohammed, J. K., Al-Ansi, W., Ghaleb, A. D. S., Al-Maqtari, Q. A., Ma, M., Ahmed, M. I., & Wang, H. (2020). Microencapsulation of fingered citron extract with gum arabic, modified starch, whey protein, and maltodextrin using spray drying. *International Journal of Biological Macromolecules*, 152, 1125–1134. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.10.201
- Maia, P. D. D. S., dos Santos Baião, D., da Silva, V. P. F., de Araújo Calado, V. M., Queiroz, C., Pedrosa, C., Valente-Mesquita, V. L., & Pierucci, A. P. T. R. (2019).

- Highly Stable Microparticles of Cashew Apple (Anacardium occidentale L.) Juice with Maltodextrin and Chemically Modified Starch. *Food and Bioprocess Technology*, *12*(12), 2107–2119. https://doi.org/10.1007/s11947-019-02376-x
- Maite T. Escribano-Bailon, & Celestino Santos-Buelga. (2012). Anthocyanin
  Copigmentation Evaluation, Mechanisms and Implications for the Colour of Red
  Wines. *Current Organic Chemistry*, 16(6), 715–723.
  https://doi.org/10.2174/138527212799957977
- Mancini, M. C. S., Ponte, L. G. S., Silva, C. H. R., Fagundes, I., Pavan, I. C. B.,
  Romeiro, S. A., da Silva, L. G. S., Morelli, A. P., Rostagno, M. A., Simabuco, F. M., & Bezerra, R. M. N. (2021). Beetroot and leaf extracts present protective effects against prostate cancer cells, inhibiting cell proliferation, migration, and growth signaling pathways. *Phytotherapy Research*, 35(9), 5241–5258.
  https://doi.org/10.1002/ptr.7197
- Marques Mandaji, C., da Silva Pena, R., & Campos Chisté, R. (2022). Encapsulation of bioactive compounds extracted from plants of genus Hibiscus: A review of selected techniques and applications. *Food Research International*, *151*(June 2021). https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110820
- Martins, N., Roriz, C. L., Morales, P., Barros, L., & Ferreira, I. C. F. R. (2016). Food colorants: Challenges, opportunities and current desires of agro-industries to ensure consumer expectations and regulatory practices. *Trends in Food Science and Technology*, *52*, 1–15. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.03.009
- Mejia, E. G. de, Zhang, Q., Penta, K., Lila, A. E. glu, & Lila, M. A. (2020). The Colors of Health: Chemistry, Bioactivity, and Market Demand for Colorful Foods and Natural Food Sources of Colorants. *Annual Review of Food Science and Technology*, 11. https://doi.org/https://doi.org/10.1146/annurev-food-032519-051729
- Michalska-Ciechanowska, A., Majerska, J., Brzezowska, J., Wojdyło, A., & Figiel, A. (2020). The influence of maltodextrin and inulin on the physico-chemical properties of cranberry juice powders. *ChemEngineering*, *4*(1), 1–12. https://doi.org/10.3390/chemengineering4010012
- Miranda, P. H. S., Santos, A. C. dos, Freitas, B. C. B. de, Martins, G. A. de S., Vilas

- Boas, E. V. de B., & Damiani, C. (2021). A scientific approach to extraction methods and stability of pigments from Amazonian fruits. *Trends in Food Science and Technology*, 113(August 2020), 335–345. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.04.047
- Mónica Giusti, M., & Wrolstad, R. E. (2005). Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-visible Spectroscopy. *Handbook of Food Analytical Chemistry*, 2–2, 19–31. https://doi.org/10.1002/0471709085.ch18
- Monteiro, M. J. P., Costa, A. I. A., Fliedel, G., Cissé, M., Bechoff, A., Pallet, D., Tomlins, K., & Pintado, M. M. E. (2017). Chemical-sensory properties and consumer preference of hibiscus beverages produced by improved industrial processes. *Food Chemistry*, 225, 202–212. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.11.127
- Moreno-Ley, C. M., Osorio-Revilla, G., Hernández-Martínez, D. M., Ramos-Monroy, O. A., & Gallardo-Velázquez, T. (2021). Anti-inflammatory activity of betalains: A comprehensive review. *Human Nutrition and Metabolism*, 25. https://doi.org/10.1016/j.hnm.2021.200126
- Muhamad, I. I., Jusoh, Y. M. M., Nawi, N. M., Aziz, A. a, Padzil, A. M., & Lian, H. L. (2018). Encapsulation methods: Anthocyanin plant pigment. In *Natural and Artificial Flavoring Agents and Food Dyes* (Vol. 7). Elsevier Inc. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811518-3/00015-6
- Nadali, N., Pahlevanlo, A., Sarabi-Jamab, M., & Balandari, A. (2021). Effect of maltodextrin with different dextrose equivalents on the physicochemical properties of spray-dried barberry juice (Berberis vulgaris L.). *Journal of Food Science and Technology*. https://doi.org/10.1007/s13197-021-05308-w
- Naveena, B., & Nagaraju, M. (2020). Microencapsulation techniques and its application in food industry. *International Journal of Chemical Studies*, 8(1), 2560–2563. https://doi.org/10.22271/chemi.2020.v8.i1am.8652
- Navidad-Murrieta, M. S., Pérez-Larios, A., Sanchéz-Burgos, J. A., Ragazzo-Sánchez, J. A., Luna-Bárcenas, G., & Sáyago-Ayerdi, S. G. (2020). Use of a Taguchi design in Hibiscus sabdariffa extracts encapsulated by spray-drying. *Foods*, *9*(2), 1–13. https://doi.org/10.3390/foods9020128

- Neslihan, G., & Sukru, K. (2020). Encapsulated of Red Beet Colour Changes During Spray Drying. *International Journal of Food Engineering and Technology*, 4(2), 13. https://doi.org/10.11648/j.ijfet.20200402.11
- Ng, M. L., & Sulaiman, R. (2018). Development of beetroot (Beta vulgaris) powder using foam mat drying. *Lwt*, 88, 80–86. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.08.032
- Ngamwonglumlert, L., Devahastin, S., & Chiewchan, N. (2017). Natural colorants: Pigment stability and extraction yield enhancement via utilization of appropriate pretreatment and extraction methods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *57*(15), 3243–3259. https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1109498
- Nguyen, Q. D., Dang, T. T., Nguyen, T. V. L., Nguyen, T. T. D., & Nguyen, N. N. (2022). Microencapsulation of roselle (Hibiscus sabdariffa L.) anthocyanins: Effects of drying conditions on some physicochemical properties and antioxidant activities of spray-dried powder. *Food Science and Nutrition*, *10*(1), 191–203. https://doi.org/10.1002/fsn3.2659
- Nirmal, N. P., Mereddy, R., & Maqsood, S. (2021). Recent developments in emerging technologies for beetroot pigment extraction and its food applications. *Food Chemistry*, 356(February), 129611. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129611
- Olatunya, A. M., & Akintayo, E. T. (2017). Evaluation of the effect of drying on the chemical composition and antioxidant activity of the essential oil of peels from three species of citrus group. *International Food Research Journal*, 24(5), 1991–1997.
- Otálora, C. M., Bonifazi, E. L., Fissore, E. N., Basanta, M. 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. https://doi.org/10.31883/pjfns/116415
- Ozkan, G., Franco, P., De Marco, I., Xiao, J., & Capanoglu, E. (2019). A review of microencapsulation methods for food antioxidants: Principles, advantages, drawbacks and applications. *Food Chemistry*, 272(February 2018), 494–506. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.07.205
- Pacheco, S. M., Soares, M. S. P., Gutierres, J. M., Gerzson, M. F. B., Carvalho, F. B.,

- Azambuja, J. H., Schetinger, M. R. C., Stefanello, F. M., & Spanevello, R. M. (2018). Anthocyanins as a potential pharmacological agent to manage memory deficit, oxidative stress and alterations in ion pump activity induced by experimental sporadic dementia of Alzheimer's type. *Journal of Nutritional Biochemistry*, *56*, 193–204. https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2018.02.014
- Paulo, F., & Santos, L. (2017). Design of experiments for microencapsulation applications: A review. *Materials Science and Engineering C*, 77, 1327–1340. https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.03.219
- Pinela, J., Prieto, M. A., Pereira, E., Jabeur, I., Barreiro, M. F., Barros, L., & Ferreira, I.
  C. F. R. (2019). Optimization of heat- and ultrasound-assisted extraction of anthocyanins from Hibiscus sabdariffa calyces for natural food colorants. *Food Chemistry*, 275(July 2018), 309–321.
  https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.09.118
- Piñón-Balderrama, C. I., Leyva-Porras, C., Terán-Figueroa, Y., Espinosa-Solís, V., Álvarez-Salas, C., & Saavedra-Leos, M. Z. (2020). Encapsulation of active ingredients in food industry by spray-drying and nano spray-drying technologies. *Processes*, 8(8). https://doi.org/10.3390/PR8080889
- Prieto-Santiago, V., Cavia, M. M., Alonso-Torre, S. R., & Carrillo, C. (2020).

  Relationship between color and betalain content in different thermally treated beetroot products. *Journal of Food Science and Technology*, *57*(9), 3305–3313. https://doi.org/10.1007/s13197-020-04363-z
- Rahimi, P., Mesbah-Namin, S. A., Ostadrahimi, A., Abedimanesh, S., Separham, A., & Asghary Jafarabadi, M. (2019). Effects of betalains on atherogenic risk factors in patients with atherosclerotic cardiovascular disease. *Food and Function*, *10*(12), 8286–8297. https://doi.org/10.1039/c9fo02020a
- Rajan, V. K., K, S. A. T., Hasna, C. K., & Muraleedharan, K. (2018). A non toxic natural food colorant and antioxidant 'Peonidin' as a pH indicator: A TDDFT analysis. *Computational Biology and Chemistry*, 76(July), 202–209. https://doi.org/10.1016/j.compbiolchem.2018.07.015
- Riaz, G., & Chopra, R. (2018). A review on phytochemistry and therapeutic uses of Hibiscus sabdariffa L. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, *102*(March), 575–586.

- https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.03.023
- Riaz, M., Zia-ul-haq, M., & Saad, B. (2016). *花色苷与人类健康:生物分子和治疗层面*.
- Righi Pessoa da Silva, H., da Silva, C., & Bolanho, B. C. (2018). Ultrasonic-assisted extraction of betalains from red beet (Beta vulgaris L.). *Journal of Food Process Engineering*, 41(6), 1–6. https://doi.org/10.1111/jfpe.12833
- Rigolon, T. C. B., Oliveira, I. R. N. de, & Stringheta, P. C. (2021). Corantes naturais: da diversidade da natureza, as aplicações e benefícios. Antocianinas. In P. C. Stringheta & P. A. V. De Freitas (Eds.), *Gastronomía ecuatoriana y turismo local*. (1 ed., Vol. 1, Issue 69).
- Robert, P., Gorena, T., Romero, N., Sepulveda, E., Chavez, J., & Saenz, C. (2010). Encapsulation of polyphenols and anthocyanins from pomegranate (Punica granatum) by spray drying. *International Journal of Food Science and Technology*, 45(7), 1386–1394. https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2010.02270.x
- Robert, P., Torres, V., García, P., Vergara, C., & Sáenz, C. (2015). The encapsulation of purple cactus pear (Opuntia ficus-indica) pulp by using polysaccharide-proteins as encapsulating agents. *Lwt*, 60(2), 1039–1045. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.10.038
- Rocha, J. de C. G., de Barros, F. A. R., Perrone, Í. T., Viana, K. W. C., Tavares, G. M., Stephani, R., & Stringheta, P. C. (2019). Microencapsulation by atomization of the mixture of phenolic extracts. *Powder Technology*, 343, 317–325. https://doi.org/10.1016/j.powtec.2018.11.040
- Rodriguez-Amaya, D. B. (2016). Natural food pigments and colorants. *Current Opinion in Food Science*, 7, 20–26. https://doi.org/10.1016/j.cofs.2015.08.004
- Rodriguez-Amaya, D. B. (2019). Update on natural food pigments A mini-review on carotenoids, anthocyanins, and betalains. *Food Research International*, *124*(May 2018), 200–205. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.05.028
- Rodríguez-Hernández, G. R., González-García, R., Grajales-Lagunes, A., Ruiz-Cabrera, M. A., & Abud-Archila, M. (2005). Spray-Drying of Cactus Pear Juice (Opuntia

- streptacantha): Effect on the Physicochemical Properties of Powder and Reconstituted Product. *Drying Technology: An International Journal*, *23*(4), 955–973.
- Sadowska-Bartosz, I., & Bartosz, G. (2021). Biological properties and applications of betalains. *Molecules*, 26(9), 1–36. https://doi.org/10.3390/molecules26092520
- Şahin, S., Kurtulbaş, E., Pekel, A. G., Toprakçı, İ., & Bilgin, M. (2021). Enhanced extraction of high added-value products from Hibiscus sabdariffa using automatic solvent extractor: Kinetics and modeling. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 19(October 2020). https://doi.org/10.1016/j.scp.2020.100356
- Samadi, S., & Raouf Fard, F. (2020). Phytochemical properties, antioxidant activity and mineral content (Fe, Zn and Cu) in Iranian produced black tea, green tea and roselle calyces. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 23(November 2019), 101472. https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101472
- Santhalakshmy, S., Don Bosco, S. J., Francis, S., & Sabeena, M. (2015). Effect of inlet temperature on physicochemical properties of spray-dried jamun fruit juice powder. *Powder Technology*, 274, 37–43. https://doi.org/10.1016/j.powtec.2015.01.016
- Santiago-Adame, R., Medina-Torres, L., Gallegos-Infante, J. A., Calderas, F., González-Laredo, R. F., Rocha-Guzmán, N. E., Ochoa-Martínez, L. A., & Bernad-Bernad, M. J. (2015). Spray drying-microencapsulation of cinnamon infusions (Cinnamomum zeylanicum) with maltodextrin. LWT - Food Science and Technology, 64(2), 571–577. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.06.020
- Sarabandi, K., Jafari, S. M., Mahoonak, A. S., & Mohammadi, A. (2019). Application of gum Arabic and maltodextrin for encapsulation of eggplant peel extract as a natural antioxidant and color source. *International Journal of Biological Macromolecules*, *140*, 59–68. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.08.133
- Sardella, L. A. C. Z. (2016). *Produção*, *Caracterização e Aplicação de Extrato de Beterraba Microencapsulado em Matrizes de Maltodextrina e Amido Modificado*. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas.
- Shaaruddin, S., Ghazali, H. M., Hamed Mirhosseini, S., & Muhammad, K. (2017).

- Stability of betanin in pitaya powder and confection as affected by resistant maltodextrin. *LWT Food Science and Technology*, *84*, 129–134. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.05.031
- Shafiee, M., Mohammadi, V., Kazemi, A., Davarpanah, H., Tabibzadeh, S. M., Babajafari, S., Rostami, H., & Mazloomi, S. M. (2021). The effect of Hibiscus sabdariffa (sour tea) compared to other herbal teas and antihypertension drugs on cardiometabolic risk factors: Result from a systematic review and meta-analysis. *Journal of Herbal Medicine*, 29(March), 100471. https://doi.org/10.1016/j.hermed.2021.100471
- Sharma, M., & Kaushik, P. (2021). Vegetable phytochemicals: An update on extraction and analysis techniques. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 36(September), 102149. https://doi.org/10.1016/j.bcab.2021.102149
- Shishir, M. R. I., & Chen, W. (2017). Trends of spray drying: A critical review on drying of fruit and vegetable juices. *Trends in Food Science and Technology*, 65, 49–67. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.05.006
- Shishir, M. R. I., Xie, L., Sun, C., Zheng, X., & Chen, W. (2018). Advances in micro and nano-encapsulation of bioactive compounds using biopolymer and lipid-based transporters. *Trends in Food Science and Technology*, 78, 34–60. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.05.018
- Sigurdson, G. T., Tang, P., & Giusti, M. M. (2017). Natural Colorants: Food Colorants from Natural Sources. *Annual Review of Food Science and Technology*, 8(1), 261–280. https://doi.org/10.1146/annurev-food-030216-025923
- Silva, J. P. P., Bolanho, B. C., Stevanato, N., Massa, T. B., & da Silva, C. (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), 1–10. https://doi.org/10.1111/jfpp.14762
- Solovchenko, A., Yahia, E. M., & Chen, C. (2018). Pigments. In *Postharvest Physiology and Biochemistry of Fruits and Vegetables*. Elsevier Inc. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813278-4.00011-7
- Stich, E. (2016). Food Color and Coloring Food: Quality, Differentiation and Regulatory Requirements in the European Union and the United States. Quality,

- Differentiation and Regulatory Requirements in the European Union and the United States. In *Handbook on Natural Pigments in Food and Beverages: Industrial Applications for Improving Food Color*. Elsevier Ltd. https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100371-8.00001-4
- Stintzing, F. C., Herbach, K. M., Mosshammer, M. R., Carle, R., Yi, W., Sellappan, S., Akoh, C. C., Bunch, R., & Felker, P. (2005). Color, betalain pattern, and antioxidant properties of cactus pear (Opuntia spp.) clones. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *53*(2), 442–451. https://doi.org/10.1021/jf048751y
- Sun, L., Xin, F., & Alper, H. S. (2021). Bio-synthesis of food additives and colorants-a growing trend in future food. *Biotechnology Advances*, 47(December 2020). https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2020.107694
- Takeungwongtrakul, S., Benjakul, S., & H-kittikun, A. (2015). Wall materials and the presence of antioxidants influence encapsulation efficiency and oxidative stability of micro-encapsulated shrimp oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 117(4), 450–459. https://doi.org/10.1002/ejlt.201400235
- Tan, C., Dadmohammadi, Y., Lee, M. C., & Abbaspourrad, A. (2021). Combination of copigmentation and encapsulation strategies for the synergistic stabilization of anthocyanins. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(4), 3164–3191. https://doi.org/10.1111/1541-4337.12772
- Tarone, A. G., Cazarin, C. B. B., & Marostica Junior, M. R. (2020). Anthocyanins: New techniques and challenges in microencapsulation. *Food Research International*, *133*(February). https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109092
- 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*(P2), 110344. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110344
- Tonon, R. V. (2009). Secagem por atomização do suco de açaí: Influência das variáveis de processo, qualidade e estabilidade do produto (Issue 6) [Universidade Estadual de Campinas]. https://doi.org/10.1039/F19848001425
- Tonon, R. V., Brabet, C., & Hubinger, M. D. (2008). Influence of process conditions on the physicochemical properties of açai (Euterpe oleraceae Mart.) powder produced by spray drying. *Journal of Food Engineering*, 88(3), 411–418.

- https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2008.02.029
- Tossi, V. E., Martínez Tosar, L., Pitta-Álvarez, S. I., & Causin, H. F. (2021). Casting light on the pathway to betalain biosynthesis: A review. *Environmental and Experimental Botany*, 186(April). https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2021.104464
- Trouillas, P., Sancho-García, J. C., De Freitas, V., Gierschner, J., Otyepka, M., & Dangles, O. (2016). Stabilizing and Modulating Color by Copigmentation: Insights from Theory and Experiment. *Chemical Reviews*, 116(9), 4937–4982. https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.5b00507
- Tumbas Šaponjac, V., Čanadanović-Brunet, J., Ćetković, G., Jakišić, M., Djilas, S., Vulić, J., & Stajčić, S. D. S. (2016). Encapsulation of beetroot pomace extract: RSM optimization, storage and gastrointestinal stability. *Molecules*, 21(5). https://doi.org/10.3390/molecules21050584
- Tutunchi, P., Roufegarinejad, L., Hamishehkar, H., & Alizadeh, A. (2019). Extraction of red beet extract with β-cyclodextrin-enhanced ultrasound assisted extraction: A strategy for enhancing the extraction efficacy of bioactive compounds and their stability in food models. *Food Chemistry*, 297(June), 124994. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.124994
- Vinha, A. F., Rodrigues, F., Nunes, M. A., & Oliveira, M. B. P. P. (2018). Natural pigments and colorants in foods and beverages. In *Polyphenols: Properties*, *Recovery, and Applications*. Elsevier Inc. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813572-3.00011-7
- Vishnu, K. V., Chatterjee, N. S., Ajeeshkumar, K. K., Lekshmi, R. G. K., Tejpal, C. S., Mathew, S., & Ravishankar, C. N. (2017). Microencapsulation of sardine oil: Application of vanillic acid grafted chitosan as a bio-functional wall material. *Carbohydrate Polymers*, 174, 540–548. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.06.076
- Xu, D., Xu, Y., Liu, G., Hou, Z., Yuan, Y., Wang, S., Cao, Y., & Sun, B. (2018). Effect of carrier agents on the physical properties and morphology of spray-dried Monascus pigment powder. *Lwt*, 98(11), 299–305. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.08.056
- Ye, Q., Georges, N., & Selomulya, C. (2018). Microencapsulation of active ingredients

- in functional foods: From research stage to commercial food products. *Trends in Food Science and Technology*, 78, 167–179. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.05.025
- Yin, Z., Yang, Y., Guo, T., Veeraraghavan, V. P., & Wang, X. (2021). Potential chemotherapeutic effect of betalain against human non-small cell lung cancer through PI3K/Akt/mTOR signaling pathway. *Environmental Toxicology*, *36*(6), 1011–1020. https://doi.org/10.1002/tox.23100
- Zeece, M. (2020). Food colorants. In Academic Press (Ed.), *Introduction to the Chemistry of Food* (1°, pp. 313–344). Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809434-1.00008-6
- Zhao, X., Ding, B. W., Qin, J. W., He, F., & Duan, C. Q. (2020). Intermolecular copigmentation between five common 3-O-monoglucosidic anthocyanins and three phenolics in red wine model solutions: The influence of substituent pattern of anthocyanin B ring. *Food Chemistry*, 326(17), 126960. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126960