

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO RIO
GRANDE DO SUL – *CAMPUS* ERECHIM
CURSO SUPERIOR DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

Gislaine Fátima Bortoli

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE BETALAÍNA EXTRAÍDA DE
BETERRABA (*Beta Vulgaris* L.) E ADICIONADA EM AZEITE DE OLIVA**

Erechim
2024

Gislaine Fátima Bortoli

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE BETALAÍNA EXTRAÍDA DE
BETERRABA (*Beta Vulgaris* L.) E ADICIONADA EM AZEITE DE OLIVA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Engenharia de Alimentos do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul - *Campus* Erechim, como requisito para a obtenção do Título de Bacharel em Engenharia de Alimentos.

Orientadora: Profa. Dra. Priscilla Pereira dos Santos

Coorientador: Prof. Dr. Wagner Luiz Priamo

Erechim - RS

2024

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer ao meu namorado Felipe por estar ao meu lado durante todos esses anos de graduação, sempre me ajudando e apoiando em tudo o que precisei. Foi ele quem me forneceu todo o suporte necessário para continuar até o fim dessa faculdade, e tenho certeza de que sem ele essa conquista não teria sido possível. Essa vitória não é apenas minha, mas também dele. Muito obrigada, amor!

Quero agradecer aos meus pais, Ilvana e Docimar, por todo o apoio e dedicação ao longo da minha jornada acadêmica.

Gostaria de também agradecer a professora Priscilla e ao professor Wagner por suas orientações, paciência e sabedoria durante todo o meu TCC.

“O Pensador Profundo computou e calculou durante sete milhões e meio de anos, e no final anunciou que a resposta à Questão Fundamental da Vida, do Universo e de Tudo Mais de fato era Quarenta e Dois”

(Douglas Adams)

RESUMO

As betalaínas são pigmentos naturais encontrados principalmente na beterraba e apresentam um potencial antioxidante significativo, devido à sua capacidade de sequestrar radicais livres e prevenir a oxidação das moléculas. A aplicação de betalaínas em alimentos e óleos vegetais, como o azeite de oliva, pode aumentar a vida útil e manter a qualidade dos produtos. Com isso, este trabalho teve como objetivo desenvolver microemulsões de betalaínas extraídas de beterraba (*Beta Vulgaris* L.) e avaliar seu potencial antioxidante quando aplicadas em azeite de oliva extra virgem. Para a extração das betalaínas da beterraba em pó, a técnica de extração assistida por ultrassom foi a mais eficiente, com conteúdo de betacianinas de $121,3 \pm 2,08$ mg/L e de betaxantinas de $93,25 \pm 3,53$ mg/L, enquanto a extração convencional apresentou teor de betacianinas de $57,56 \pm 1,17$ mg/L e de betaxantinas em $36,33 \pm 0,88$ mg/L. A partir da análise estatística, verificou-se que na extração assistida por ultrassom a razão beterraba em pó/solvente influenciou positivamente na quantidade de betalaínas extraídas, enquanto que a porcentagem de etanol no solvente influenciou de forma negativa na extração. Os extratos de betalaínas foram aplicados em microemulsões A/O, utilizando-se óleo mineral como fase oleosa e lecitina de soja como tensoativo. As microemulsões foram submetidas a análises de cor e de separação de fases, sendo as amostras 14 e 32 as mais estáveis. A amostra 32 apresentou menor tamanho de partículas, com um tamanho médio de $145,05 \pm 2,61$ nm, enquanto que a amostra 14 exibiu um tamanho médio de partícula de $205,7 \pm 5,23$ nm. As microemulsões com extrato de betalaínas foram aplicadas no azeite de oliva extra virgem, em concentrações de 5% e 10%, sob condições de oxidação acelerada. Todas as amostras apresentaram redução no índice de peróxidos em comparação ao controle (azeite de oliva extra virgem puro), observando-se maior redução no índice de peróxidos nas amostras com 10% de microemulsões e nas amostras com microemulsão 32, demonstrando o potencial antioxidante das betalaínas quando aplicadas no azeite de oliva extra virgem.

Palavras-chave: Betalaínas, extração, ultrassom, microemulsão, azeite de oliva.

ABSTRACT

Betalains are natural pigments found mainly in red beetroot and have significant antioxidant potential due to their ability to scavenge free radicals and prevent molecular oxidation. The application of betalains in foods and vegetable oils, such as olive oil, can extend the shelf life and maintain product quality. Therefore, this study aimed to develop microemulsions of betalains extracted from beet (*Beta Vulgaris* L.) and evaluate their antioxidant potential when applied to extra virgin olive oil. For the extraction of betalains from red beetroot powder, ultrasound-assisted extraction was the most efficient method, with a betacyanin content of 121.3 ± 2.08 mg/L and betaxanthin of 93.25 ± 3.53 mg/L, while conventional extraction yielded a betacyanin content of 57.56 ± 1.17 mg/L and betaxanthins of 36.33 ± 0.88 mg/L. Statistical analysis showed that in ultrasound-assisted extraction, the beetroot powder/solvent ratio had a positive influence on the amount of betalains extracted, while the percentage of ethanol in the solvent had a negative influence on extraction. The betalain extracts were applied in W/O microemulsions, using mineral oil as the oil phase and soy lecithin as the surfactant. The microemulsions were subjected to color and phase separation analyses, with samples 14 and 32 being the most stable. Sample 32 had the smallest particle size, with an average size of 145.05 ± 2.61 nm, while sample 14 had an average particle size of 205.7 ± 5.23 nm. The microemulsions with betalain extract were applied to extra virgin olive oil at concentrations of 5% and 10%, under accelerated oxidation conditions. All the samples showed a reduction in the peroxide index compared to the control (pure extra virgin olive oil), with a greater reduction in the peroxide index in the samples with 10% microemulsions and in samples with microemulsion 32, demonstrating the antioxidant potential of betalains when applied to extra virgin olive oil.

Keywords: Betalains, extraction, ultrasound, microemulsion, olive oil.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Beterraba (<i>Beta vulgaris</i> L.).	17
Figura 2 – Estrutura das betalaínas a partir das ligações do ácido betalâmico (a) com ciclo-DOPA para a formação de betacianinas (b) e com aminoácidos para a formação de betaxantinas (c).	19
Figura 3 – Esquema de um aparelho de extração assistida por ultrassom.	25
Figura 4 – Estrutura da microemulsão O/A (esquerda) e A/O (direita).	28
Figura 5 – Estrutura geral dos surfactantes.	29
Figura 6 – Amostras extraídas por ultrassom.	42
Figura 7 – Diagrama de Pareto para o conteúdo de betacianinas.	43
Figura 8 – Gráfico de superfície de resposta de temperatura (°C) x RSL (g/mL) para as betacianinas.	44
Figura 9 – Diagrama de Pareto para o conteúdo de betaxantinas.	45
Figura 10 – Gráfico de superfície de resposta de temperatura (°C) x RSL (g/mL) para as betaxantinas.	46
Figura 11 – Amostras extraídas por ultrassom na cinética da extração.	47
Figura 12 – Cinética da extração das betalaínas.	47
Figura 13 – Microemulsões elaboradas a partir do delineamento experimental no dia inicial (A) e após 10 dias (B).	49
Figura 14 – Microemulsões no primeiro dia (A) e após 10 dias (B).	51
Figura 15 – Diagrama pseudo-ternário para microemulsão com razão de extrato/água 2:1.	52
Figura 16 – Diagrama pseudo-ternário para microemulsão com razão de extrato/água 1:1.	53
Figura 17 – Microemulsão ideal selecionada a partir do diagrama pseudo-ternário no dia inicial (A) e após 14 dias de exposição à luz (B).	54
Figura 18 – Comparação da análise colorimétrica das amostras 14 e 32.	56
Figura 19 – Distribuição do tamanho das partículas das microemulsões de betalaínas.	57
Figura 20 – Amostras de azeite sem aplicação de microemulsão (controle) no dia inicial (A) e após 24 dias (B).	59
Figura 21 – Amostras de azeite com aplicação da microemulsão 14 no dia inicial (A) e após 24 dias (B).	59

Figura 22 – Amostras de azeite com aplicação da microemulsão 32 no dia inicial (A) e após 24 dias (B).	60
Figura 23 – Fundo do <i>Erlenmeyer</i> com a amostra 14 D no dia inicial (A) e após 24 dias (B).	61
Figura 24 – Fundo do <i>Erlenmeyer</i> com a amostra 32 D no dia inicial (esquerda) e após 24 dias (direita).....	61
Figura 25 – Variação do índice de peróxidos das amostras de azeite de oliva extra virgem com o tempo.	63

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Variáveis independentes do DCCR da extração e seus códigos e níveis.	35
Tabela 2 – Variáveis independentes e seus códigos e níveis para o delineamento experimental da microemulsão.....	38
Tabela 3 – Conteúdo de betacianinas e betaxantinas.....	41
Tabela 4 – Conteúdo de betalaínas obtido a partir da extração convencional.	48
Tabela 5 – Análise colorimétrica das microemulsões obtidas no delineamento experimental no dia inicial e após 10 dias.....	50
Tabela 6 – Novas formulações de microemulsões.....	51
Tabela 7 – Análise colorimétrica das novas microemulsões.	51
Tabela 8 – Composição da microemulsão 32.	54
Tabela 9 – Análise colorimétrica da microemulsão número 32.	55
Tabela 10 – Análise colorimétrica da microemulsão 32 sem extrato.....	55
Tabela 11 – Formulações das amostras das microemulsões utilizadas para a aplicação no azeite de oliva extra virgem.....	58
Tabela 12 – Quantidades das microemulsões aplicadas no azeite de oliva extra virgem.	58
Tabela 13 – Análise colorimétrica das amostras de azeite de oliva extra virgem no dia inicial e após 24 dias.	62
Tabela 14 – Índice de peróxidos nas amostras de azeite de oliva extra virgem com aplicação de microemulsões de betalaínas.....	63
Tabela 15 – Porcentagem de redução no índice de peróxidos das amostras de azeite de oliva extra virgem com microemulsões de betalaínas em comparação ao controle.	65

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
OMS	Organização Mundial da Saúde
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
EAU	Extração assistida por ultrassom
A/O	Água em óleo
O/A	Óleo em água
DCCR	Delineamento Composto Central Rotacional
RSL	Razão sólido/líquido
ANOVA	Análise de Variância
BHT	Hidroxitolueno butilado
BHA	Hidroxianisol butilado
PG	Galato de propila

LISTA DE SÍMBOLOS

λ_{\max}	Espectro de absorção
X1	Potência
X2	Temperatura
X3	Etanol
X4	Razão sólido/líquido
CB	Conteúdo de betalaínas
A	<i>Absorção</i>
FD	Fator de diluição
MM	Massa molar
E	Coefficiente molar de absorção
L	Comprimento da cubeta
Y1	Volume de extrato
Y2	Massa de lecitina de soja
A	Volume em mL da solução de tiosulfato de sódio gasta para a amostra
B	Volume em mL da solução de tiosulfato de sódio gasta para o branco
N	Normalidade da solução de tiosulfato de sódio
P	Peso da amostra
FC	Fator de correção da solução de tiosulfato de sódio

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	OBJETIVOS	16
2.1	OBJETIVO GERAL	16
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
3	REFERENCIAL TEÓRICO	17
3.1	BETERRABA	17
3.2	BETALAÍNAS	18
3.2.1	Atividade antioxidante das betalaínas	20
3.2.2	Estabilidade das betalaínas	22
3.3	EXTRAÇÃO DE BETALAÍNAS	23
3.3.1	Extração assistida por ultrassom	24
3.4	MICROEMULSÕES	27
3.4.1	Diagrama pseudo-ternário	31
3.5	AZEITE DE OLIVA	31
3.5.1	Oxidação do azeite de oliva	32
4	MATERIAIS E MÉTODOS	35
4.1	MATERIAIS	35
4.2	EXTRAÇÃO DE BETALAÍNA POR ULTRASSOM	35
4.3	QUANTIFICAÇÃO DOS EXTRATOS DE BETALAÍNA OBTIDOS PELOS MÉTODOS DE EXTRAÇÃO	36
4.4	CINÉTICA DA EXTRAÇÃO	37
4.5	EXTRAÇÃO CONVENCIONAL DE BETALAÍNA	37
4.6	OBTENÇÃO DA MICROEMULSÃO	37
4.7	CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DA MICROEMULSÃO	39

4.8	APLICAÇÃO DA MICROEMULSÃO NO AZEITE DE OLIVA EXTRA VIRGEM	39
4.9	AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE OXIDATIVA POR ÍNDICE DE PERÓXIDO E COR	40
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
5.1	QUANTIFICAÇÃO DE BETALAÍNAS EXTRAÍDAS POR ULTRASSOM.....	41
5.1.1	Quantificação de betacianinas	42
5.1.2	Quantificação de betaxantinas	44
5.1.3	Cinética da extração.....	46
5.2	EXTRAÇÃO CONVENCIONAL.....	48
5.3	OBTENÇÃO DAS MICROEMULSÕES.....	49
5.3.1	Diagrama de fases pseudo-ternário.....	52
5.3.2	Análise de tamanho de partícula.....	57
5.4	APLICAÇÃO NO AZEITE DE OLIVA EXTRA VIRGEM	58
5.4.1	Teor de oxidação do azeite de oliva extra virgem	62
6	CONCLUSÃO.....	67
	REFERÊNCIAS.....	69
	APÊNDICE A - FORMULAÇÕES UTILIZADAS NO DCCR DA EXTRAÇÃO.....	76
	APÊNDICE B - FORMULAÇÕES UTILIZADAS NO DELINEAMENTO EXPERIMENTAL DAS MICROEMULSÕES.....	77
	ANEXO A – FICHA TÉCNICA DA BETERRABA EM PÓ	78

1 INTRODUÇÃO

A raiz da beterraba, *Beta Vulgaris* L., tem ganhado destaque como antioxidante natural em alimentos. Isso se deve em grande parte à presença de compostos antioxidantes, como os compostos fenólicos e, mais notavelmente, as betalaínas. As betalaínas são pigmentos vegetais que dão à beterraba sua cor vermelha característica e apresentam propriedades antioxidantes que ajudam a combater os radicais livres presentes nos alimentos (Hadipour *et al.*, 2020).

No entanto, por se tratar de um antioxidante natural, as betalaínas têm sua estabilidade influenciada por diversos fatores, incluindo pH, temperatura, luz e oxigênio (Castro-Enríquez *et al.*, 2020). Devido a isso, se faz necessária a aplicação de métodos de extração que não causem a deterioração das betalaínas, como a extração assistida por ultrassom, que utiliza ondas ultrassônicas para a remoção dos compostos de interesse (Linares e Rojas, 2022). Além disso, para sua utilização como antioxidantes naturais em alguns alimentos, como o azeite de oliva, as betalaínas extraídas precisam passar por um processo de microemulsão de água em óleo, de modo a tornar as duas fases miscíveis (Gomes, 2009).

O azeite de oliva é um óleo vegetal amplamente conhecido e consumido em todo o mundo. Extraído das azeitonas, as frutas da oliveira (*Olea europaea* L.), é apreciado por seu sabor distinto, suas propriedades nutricionais e efeitos na prevenção de doenças cardiovasculares (Beneito-Cambra *et al.*, 2020).

Por se tratar de um produto rico em ácidos graxos insaturados é altamente suscetível a oxidação (Díaz-Montaña, Aparicio-Ruiz e Morales, 2023). Essa oxidação resulta na formação de compostos indesejados que ocasionam sabores desagradáveis e favorecem a deterioração nutricional do produto (Poulli, Mousdis e Georgiou, 2009), sendo acelerada quando o azeite de oliva é exposto ao oxigênio, calor e luz, fator responsável pela sua foto-oxidação (Tarapoulouzi *et al.*, 2022).

Devido ao elevado valor comercial agregado, se comparado aos demais óleos vegetais, é importante buscar o aumento da sua vida útil e manutenção da sua qualidade. Para isso, os antioxidantes naturais, como as betalaínas extraídas da beterraba, podem ser utilizados no azeite de oliva como uma forma de reduzir as

alterações de suas características provenientes da oxidação, sem causar danos à saúde (Bouaziz *et al.*, 2008).

Diante do exposto, este trabalho visa obter betalaínas, a partir de raiz de beterraba por extração assistida por ultrassom, e incorporá-las na forma de microemulsão ao azeite de oliva extra virgem, buscando retardar a oxidação lipídica e aumentar a vida útil desse produto.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver microemulsões de betalaínas extraídas de beterraba *Beta Vulgaris* L. e avaliar o seu potencial antioxidante em azeite de oliva extra virgem.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

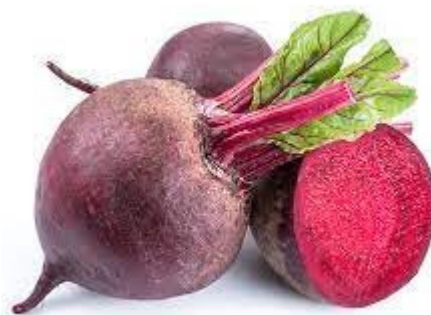
- I. Investigar o processo de obtenção de betalaínas a partir de beterraba utilizando extração assistida por ultrassom;
- II. Avaliar o extrato de betalaínas pela determinação quantitativa dos teores de betacianinas e betaxantinas;
- III. Desenvolver microemulsões de betalaínas do tipo água em óleo por meio de delineamento experimental e diagrama de fases pseudo-ternário;
- IV. Caracterizar microemulsões de betalaínas por meio da determinação de tamanho de partícula, análise colorimétrica e separação de fases;
- V. Avaliar a estabilidade à oxidação de azeite de oliva extra virgem adicionado de microemulsões de betalaínas através da análise de índice de peróxidos.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 BETERRABA

A beterraba (*Beta vulgaris* L.), apresentada na Figura 1, é uma hortaliça tuberosa, originária do sul da Europa e do norte da África, pertencente à família *Chenopodiaceae* (Tivelli *et al.*, 2011). É rica em nutrientes como vitaminas, incluindo ácido fólico, vitaminas A, C e do complexo B, além de minerais como potássio, magnésio, ferro, sódio, cálcio, fósforo e zinco. Também possui compostos bioativos, incluindo os compostos fenólicos, carotenoides, ácido ascórbico e principalmente as betalaínas, responsáveis pela cor da beterraba (Olumese e Oboh, 2016). Além disso, a beterraba possui um elevado valor nutricional, atribuído ao seu alto teor de sacarose (Fu *et al.*, 2020).

Figura 1 – Beterraba (*Beta vulgaris* L.).



Fonte: Campeol (2023).

A beterraba é dividida entre: beterraba açucareira, empregada na fabricação de açúcar; beterraba forrageira, destinada à alimentação animal; e a beterraba hortícola, cujas raízes são consumidas como hortaliças, sendo a variedade mais conhecida no Brasil (EMBRAPA, 2022). A beterraba cresce na maioria dos países e é utilizada como bebida, alimento, corante, entre outros (Hadipour *et al.*, 2020).

No Brasil, a beterraba hortícola, também chamada de beterraba vermelha ou beterraba de mesa, é o biótipo mais utilizado para fins comerciais. Contudo, sua

comercialização é menor quando comparada as demais hortaliças tradicionais, como a venda de batata, tomate ou da cebola por exemplo (Tivelli *et al.*, 2011).

Mesmo apresentando uma escala comercial menor em relação as demais hortaliças, a quantidade de beterraba produzida no Brasil no ano de 2017, segundo os últimos dados publicados pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE, foi de 134.969 toneladas, com 24.870 estabelecimentos produtores, sendo São Paulo o estado com maior produção (IBGE, 2017a). No Rio Grande do Sul, para este mesmo ano, a quantidade produzida foi de 18.688 toneladas a partir de 3.358 estabelecimentos produtores, sendo Caxias do Sul a cidade com maior produção (IBGE, 2017b). As regiões sul e sudeste correspondem a aproximadamente 90% da produção nacional (Agnelo, 2021).

3.2 BETALAÍNAS

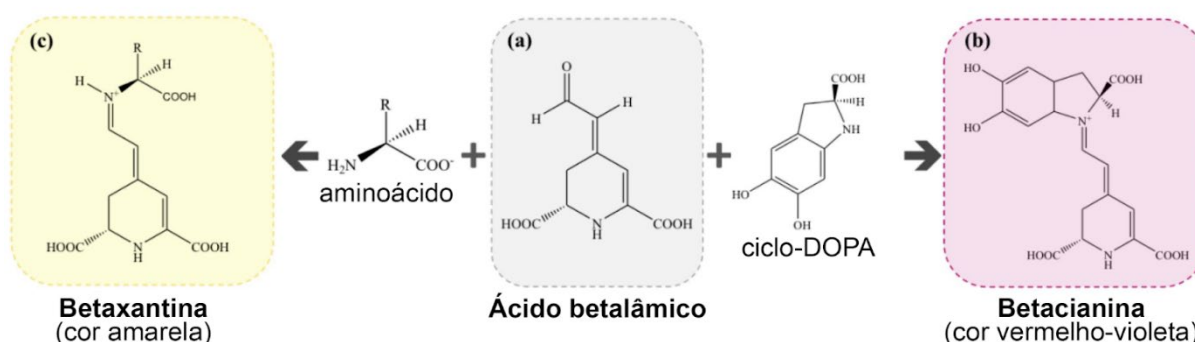
A beterraba é composta por diferentes pigmentos, todos pertencentes à classe das betalaínas, que fornecem a sua cor vermelho-arroxeadada. As betalaínas são pigmentos hidrossolúveis, divididos em betacianinas, que possuem a cor vermelho-violeta, com um espectro de absorção (λ_{\max}) de 541 ± 9 nm e são classificadas em isobetanina, neobetanina e betanina, que representa 75% a 95% das betacianinas, e as betaxantinas, de coloração amarelada com espectro de absorção (λ_{\max}) de $471,5 \pm 13,5$ nm e que aparecem em menor porcentagem, sendo divididas principalmente em vulgaxantina I, vulgaxantina II e indicaxantina (Georgiev *et al.*, 2010; Castro-Enríquez *et al.*, 2020).

As betalaínas são pigmentos nitrogenados, existentes em nove das 11 famílias da ordem *Caryophyllales*, sendo encontradas principalmente em frutas, hortaliças e flores (Koblitz, 2019), presentes nos vacúolos das células que as sintetizam. São derivadas do aminoácido tirosina e apresentam natureza ácida devido à presença de vários grupos carboxílicos (Gonçalves, 2018). Até agora, aproximadamente 70 betalaínas foram identificadas na natureza, consistindo em cerca de 50 betacianinas e 20 betaxantinas (Castro-Enríquez *et al.*, 2020).

Esses pigmentos apresentam estrutura básica constituída pelo ácido betalâmico com aminas primárias ou secundárias, diferindo quanto aos seus ligantes

(R1 e R2 que podem ser hidrogênio ou um substituinte aromático). As betacianinas têm acoplado ao ácido betalâmico o ciclo-DOPA (núcleo aromático) com açúcares em diferentes posições do anel fenólico. Já as betaxantinas possuem o ácido betalâmico ligado com aminoácidos ou aminas (Koblitz, 2019). A alteração dos grupos variáveis (R1 e R2) que constituem o pigmento ocorre em função das diferentes fontes de onde podem ser obtidas e, conseqüentemente, determinam a sua tonalidade e estabilidade (Gonçalves, 2018). A estrutura fundamental da betalaína é ilustrada na Figura 2, destacando as variações estruturais entre a betaxantina e a betacianina.

Figura 2 – Estrutura das betalaínas a partir das ligações do ácido betalâmico (a) com ciclo-DOPA para a formação de betacianinas (b) e com aminoácidos para a formação de betaxantinas (c).



Fonte: Adaptado de (Calva-Estrada, Jiménez-Fernández e Lugo-Cervantes, 2022).

Observa-se um aumento progressivo na adoção dos pigmentos derivados da beterraba como alternativa aos corantes artificiais e diferentemente dos corantes sintéticos, seus corantes naturais são ecologicamente corretos e não causam impactos ambientais (Sivakumar *et al.*, 2009). O corante vermelho da beterraba encontra aplicação em produtos como sorvetes, iogurtes, carnes, refrigerantes, sobremesas em pó instantâneas e pudins (Tivelli *et al.*, 2011). Em relação à segurança de uso, o corante vermelho de beterraba (INS 162), constituído de betanina, não possui valor máximo de consumo especificado pela legislação brasileira (Brasil, 2023) ou por órgãos internacionais, como a Organização Mundial da Saúde (OMS) e a *Food and Drug Administration*, dos EUA (FDA) (OMS, 1987; FDA, 2023). Além disso, as betalaínas têm sido comercializadas como suplemento dietético, devido principalmente às suas propriedades antioxidantes, antiproliferativas, cardioprotetoras, antimicrobianas e anti-inflamatórias (Gonçalves, 2018).

3.2.1 Atividade antioxidante das betalaínas

As betalaínas têm recebido crescente atenção, não apenas por sua notável capacidade como corantes alimentares de alta intensidade, mas também devido às suas promissoras propriedades bioativas. Estudos recentes sobre sua atividade antioxidante têm levantado a possibilidade das betalaínas serem reconhecidas como uma nova categoria de antioxidantes dietéticos (Fernando *et al.*, 2022).

As betalaínas possuem atividade antioxidante por apresentarem a capacidade de sequestrar radicais livres e prevenir a oxidação das moléculas (Tivelli *et al.*, 2011). Isso ocorre devido à ressonância de elétrons entre os nitrogênios e as hidroxilas da região fenólica (Koblitz, 2019), por esse motivo, são conhecidas como antioxidantes naturais. A capacidade antioxidante está relacionada a estrutura das betalaínas, no caso das betaxantinas é devido aos grupos -hidroxi presentes em sua estrutura, que promovem a eliminação dos radicais livres e, para as betacianinas, a capacidade antioxidante ocorre devido ao aumento da sua capacidade de doação de elétrons (Georgiev *et al.*, 2010).

Como os radicais são moléculas com carência de elétrons, as betalaínas possuem a habilidade de ceder densidade eletrônica ao orbital parcialmente preenchido, promovendo, assim, a sua estabilização (Slimen, Najjar e Abderrabba, 2017). A ação antioxidante das moléculas de betalaínas varia conforme suas estruturas químicas. Em comparação com as betaxantinas, as betacianinas têm atividade antioxidante mais forte, bem como maior capacidade de eliminação desses radicais (Fu *et al.*, 2020).

Sabe-se que a beterraba vermelha é a raiz onde se encontram as maiores quantidades de betalaína (Gonçalves, 2018), apresentando concentrações entre 300 a 600 mg por quilograma de beterraba (Lajolo e Mercadante, 2017). A casca é a região da hortícola que apresenta a maior parte das betalaínas (54%), estando em menor quantidade na coroa (32%) e na polpa (14%) (Vulić *et al.*, 2014). Devido a isso, os extratos da casca possuem maior atividade antioxidante (Kujala *et al.*, 2002) e podem ser empregados para aumentar a estabilidade dos alimentos, prevenindo a oxidação lipídica (Vulić *et al.*, 2014).

As betalaínas apresentam uma intensa capacidade de eliminar radicais livres, sendo categorizadas como uma classe de antioxidantes catiônicos dietéticos. Essa capacidade supera consideravelmente a do antioxidante sintético Trolox, uma variante hidrossolúvel da vitamina E, bem como as de ácido ascórbico, rutina, catequina, β -caroteno e α -tocoferol (Slimen, Najar e Abderrabba, 2017).

Evidências mostraram que o ácido betalâmico, reduz duas moléculas de Fe^{3+} para Fe^{2+} , doando, desse modo, dois elétrons a um agente oxidante. Após passarem por oxidação, as betalaínas têm a capacidade de se decompor, resultando na libertação do ácido betalâmico, que pode ser condensado com ciclo-DOPA ou aminoácidos, regenerando assim a formação de betalaínas (Slimen, Najar e Abderrabba, 2017).

O consumo de beterraba vermelha oferece proteção contra doenças associadas ao estresse oxidativo em seres humanos, incluindo certos tipos de câncer (Tivelli *et al.*, 2011), em virtude da sua capacidade de inibir a peroxidação do ácido linoléico e proporcionar a proteção das partículas de LDL (lipoproteínas de baixa densidade) à oxidação (Gandía-Herrero *et al.*, 2010).

Para os alimentos, quando em níveis de concentração extremamente reduzidos, a betanina mostrou-se capaz de inibir a peroxidação de lipídios (Slimen, Najar e Abderrabba, 2017). Segundo resultados obtidos por Attia, Moussa e Sheashea (2013), aplicando-se betalaína em óleo de milho, à medida que a concentração de betalaína aumentou, houve um aumento no efeito inibitório do índice de peróxido, controlando o desenvolvimento de rancidez no óleo em níveis superiores aos antioxidantes sintéticos, além de minimizar os efeitos adversos à saúde causados por estes.

Pesquisas realizadas por Raikos *et al.* (2016), demonstraram que a betalaína quando aplicada em maionese, apresenta uma capacidade eficaz de preservá-la contra a oxidação lipídica durante um período de 28 dias em armazenamento a 4°C, além de exibir um efeito protetor similar ao dos antioxidantes sintéticos empregados em produtos comerciais.

3.2.2 Estabilidade das betalaínas

A estabilidade das betalaínas é afetada pela presença de luz e oxigênio, acidez ou alcalinidade extrema, e temperaturas elevadas. Cada um desses elementos impacta em um ou mais grupos funcionais encontrados nas betalaínas, levando à sua deterioração (Gandía-Herrero *et al.*, 2010). Os grupos estruturais das betacianinas e das betaxantinas demonstram diferentes níveis de estabilidade. As betacianinas são mais resistentes à influência da temperatura, ao pH ácido e têm uma menor propensão à oxidação quando comparadas às betaxantinas. No entanto, as betaxantinas apresentam uma maior estabilidade em pH 7 e em presença de enzimas hidrolíticas. A maior estabilidade das betacianinas em relação às betaxantinas pode ser atribuída, em parte, à presença de estruturas glicosiladas, que possuem um alto potencial de oxidação-redução (Castro-Enríquez *et al.*, 2020).

Altas temperaturas provocam a degradação térmica das betalaínas, com influência da intensidade do aquecimento, presença de oxigênio, concentração de pigmentos presentes, pressão, entre outros fatores. O ácido betalâmico é suscetível à isomerização ocasionada pelo efeito da temperatura. A hidrólise da betanina leva à quebra da molécula, gerando ácido betalâmico e ciclo -dopa-5-O-beta-glicosídeo, provocando uma diminuição da coloração (Calva-Estrada, Jiménez-Fernández e Lugo-Cervantes, 2022). As betalaínas se degradam a temperaturas superiores a 50 °C, sendo estáveis por mais de 20 dias quando armazenadas à 4 °C e por mais de 275 dias quando armazenadas em estado de congelamento, a -30 °C (Sadowska-Bartosz e Bartosz, 2021).

Outro fator que influencia a deterioração das betalaínas é a presença de oxigênio. Em soluções onde o teor de oxigênio está excessivamente elevado, a perda da betanina segue um processo cinético de primeira ordem. A degradação da betanina desvia-se dessa cinética de primeira ordem quando a concentração molar de oxigênio é diminuída até alcançar níveis aproximados aos da betanina. Quando ausente, o oxigênio propicia um aumento na estabilidade. O oxigênio molecular é identificado como um agente ativo na degradação oxidativa da betanina. Uma vez que as betalaínas são suscetíveis à oxidação, esses compostos também são antioxidantes eficazes (Damodaran e Parkin, 2019).

As betalaínas se degradam facilmente quando expostas à luz, devido à absorção de luz ultravioleta. A extensão desse efeito está condicionada à intensidade da luz, à presença ou ausência de oxigênio e à concentração e reatividade das próprias betalaínas. Além disso, uma série adicional de processos, incluindo vácuo, fervura, alta pressão, pasteurização e o uso de aditivos também influenciam a estabilidade das betalaínas em produtos (Calva-Estrada, Jiménez-Fernández e Lugo-Cervantes, 2022).

3.3 EXTRAÇÃO DE BETALAÍNAS

As extrações constituem uma operação unitária que abrange a transferência de massa e tem como objetivo separar substâncias de interesse de uma matriz, podendo ser esta sólida ou líquida, através de procedimentos químicos, físicos ou mecânicos. Esses procedimentos podem ser aplicados em meio sólido-líquido, gás-líquido ou líquido-líquido (Tzia e Liadakis, 2003). Para obter pigmentos e outros compostos intracelulares de matrizes vegetais, é essencial diminuir as barreiras à transferência de massa, facilitando as interações entre o solvente e a amostra (Linares e Rojas, 2022).

Várias tecnologias e abordagens, tanto convencionais quanto emergentes, são utilizadas para a extração de diferentes tipos de matriz. Os métodos convencionais incluem maceração, *Soxhlet*, destilação, tratamento térmico e extração por solvente (Linares e Rojas, 2022). Porém, os métodos convencionais para extrair betalaínas frequentemente requerem a combinação de metanol com outros solventes orgânicos, resultando na presença de resíduos de solventes nos produtos alimentícios (Fu *et al.*, 2020). Além de demandarem tempo, energia e solventes, esses métodos resultam em rendimentos de extração baixos e levam à perda de compostos sensíveis ao calor (Linares e Rojas, 2022).

Com o intuito de prevenir uma maior degradação das betalaínas durante o processo de extração e reduzir a contaminação do solvente utilizado, várias tecnologias emergentes têm sido empregadas, tais como irradiação gama, campo elétrico pulsado, extração assistida por ultrassom e extração assistida por micro-ondas (Fu *et al.*, 2020). Essas tecnologias demonstraram ser uma alternativa

sustentável à extração convencional, exibindo potencial para ampliar os rendimentos de extração, reduzir o tempo de extração e diminuir o consumo de energia e solventes (Linares e Rojas, 2022), além de empregar substâncias químicas mais seguras e fazer uso de matérias-primas renováveis (Domingues, 2019).

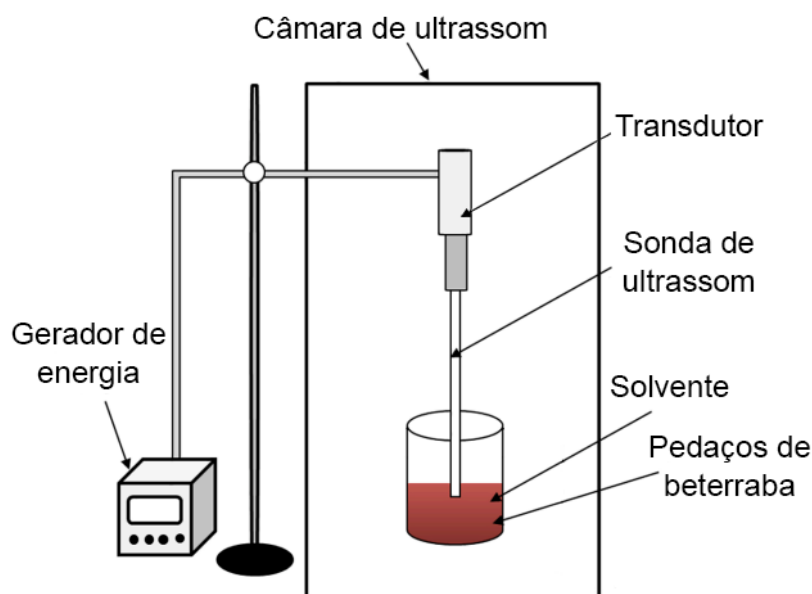
3.3.1 Extração assistida por ultrassom

A extração de corantes provenientes da beterraba é um procedimento de lixiviação sólido-líquido que enfrenta desafios relacionados à transferência de massa. Devido à ligação intensa dos corantes às membranas das células vegetais, aprimoramentos podem ser aplicados ao processo, como a utilização de métodos não convencionais, incluindo a extração assistida por ultrassom (Sivakumar *et al.*, 2009).

Dentro das tecnologias emergentes, a extração assistida por ultrassom (EAU) destaca-se como uma das abordagens mais investigadas e eficazes na recuperação de pigmentos naturais de vegetais. Essa técnica envolve a utilização de ondas sonoras com propriedades bem definidas, como frequência, amplitude e comprimento de onda, a fim de promover modificações físico-químicas no meio de propagação (Linares e Rojas, 2022). Os ultrassons representam ondas acústicas mecânicas que requerem um meio para sua propagação, apresentando frequências superiores a 20 kHz, ou seja, além do alcance da audição humana, que se situa entre 16 kHz e 20 kHz (Domingues, 2019).

A técnica de extração assistida por ultrassom é empregada em um meio líquido constituído pela amostra particulada (geralmente em forma de pó), que está dispersa no solvente (Linares e Rojas, 2022). Uma sonda conectada a um transdutor piezoelétrico é imersa no recipiente, fornecendo ultrassom ao meio com mínima perda de energia (Kumar, Srivastav e Sharanagat, 2021). A Figura 3 apresenta um esquema de um sistema de extração assistida por ultrassom.

Figura 3 – Esquema de um aparelho de extração assistida por ultrassom.



Fonte: Adaptado de (Nirmal, Mereddy e Maqsood, 2021).

Outra forma de se proceder à extração por ultrassom é utilizando um banho que emita tais ondulações. Em ambos os processos, a extração ocorre por meio da cavitação, onde as ondas ultrassônicas atravessam um meio líquido, geram microbolhas que se expandem e colapsam de maneira rápida e violenta (Sivakumar *et al.*, 2009). Essas microbolhas ocorrem devido a alternância de compressão (pressão positiva, que reduz o tamanho da bolha) e rarefação (pressão negativa, que expande a bolha) no líquido a partir do ultrassom (Domingues, 2019). Quando a cavitação acontece próxima à superfície sólida do material, provoca a formação de microjatos e ondas de choque (Nirmal, Mereddy e Maqsood, 2021). Conforme as ondas de choque se expandem, elas geram forças de cisalhamento significativas no ambiente, o que leva à quebra da parede celular (Zheng *et al.*, 2021). Esses efeitos amplificam a transferência de calor e massa, resultando em um acesso mais rápido do solvente aos componentes celulares da beterraba (Nirmal, Mereddy e Maqsood, 2021). Resumidamente, esse processo leva à diminuição do tamanho das partículas, liberação dos pigmentos intracelulares, aumento da superfície de contato da amostra com o solvente, melhora da solubilização do composto e facilita o transporte do solvente para matriz até o composto e do composto em direção ao solvente, aumentando o rendimento da extração (Linares e Rojas, 2022).

Como o ultrassom é uma forma de onda mecânica, suas propriedades como potência e frequência podem afetar a cavitação acústica, e conseqüentemente, o processo de extração. A aplicação de potência ultrassônica elevada provoca grandes modificações nos materiais, devido à geração de forças de cisalhamento intensas. Em geral, para melhorar a eficiência da extração em termos de rendimento e composição dos extratos, é comum aumentar a potência do ultrassom, reduzir a umidade das matrizes de alimentos para aprimorar a interação entre solvente e sólidos, e otimizar a temperatura visando a diminuir o tempo de extração (Chemat *et al.*, 2017).

O solvente utilizado na EAU afetará o início da cavitação acústica devido a sua viscosidade, pressão de vapor e tensão superficial. Solventes mais viscosos e com maior tensão superficial necessitam de maior energia para o início da cavitação, assim como solventes com menor pressão de vapor geram maior energia no colapso das bolhas. Além disso, o composto extraído deve ser solúvel no solvente escolhido (Panda e Manickam, 2019).

A frequência terá efeito sobre as dimensões da ressonância da bolha. Geralmente, as frequências mais empregadas em processos de extração assistida por ultrassom variam de 20 kHz a 100 kHz. À medida que a frequência do ultrassom aumenta, a formação e a intensidade da cavitação no líquido diminuem. Nas frequências mais baixas, ocorre uma menor quantidade de bolhas de cavitação, embora elas sejam maiores em diâmetro. Isso favorece os efeitos físicos do processo em detrimento dos efeitos químicos (Chemat *et al.*, 2017).

Outro fator que influencia no processo de extração assistida por ultrassom é o tamanho das sondas. Sondas de ponta com diâmetro reduzido produzem um efeito de cavitação mais acentuado, porém esse efeito fica limitado a uma área mais estreita. Em contrapartida, sondas com ponta de diâmetro maior geram um efeito de cavitação menos pronunciado, mas a energia é distribuída por uma área maior (Kumar, Srivastav e Sharanagat, 2021).

A técnica de extração assistida por ultrassom mostra-se promissora para extração de betalaínas. No entanto, devido à baixa estabilidade desse pigmento, a utilização de métodos como a microemulsão após a etapa de extração emerge como uma possível estratégia eficaz para aumentar a durabilidade desse corante (Sousa, 2019).

3.4 MICROEMULSÕES

Emulsões consistem em dispersões de dois líquidos imiscíveis. Nos alimentos, encontram-se frequentemente dois tipos principais de emulsões: a emulsão de óleo em água e a emulsão de água em óleo (Campbell-Platt, 2015). Trata-se de um processo de formação de emulsões através da mistura de dois ou mais líquidos que não se misturam naturalmente, gerando gotículas dispersas em um meio contínuo. Todas as emulsões presentes em alimentos exibem uma instabilidade termodinâmica e têm propensão a se separarem em duas fases distintas, resultando em modificações significativas na aparência, textura e no produto (Tadini *et al.*, 2018). Para manter sua estabilidade, é necessária a presença de moléculas anfifílicas na interface (Damodaran e Parkin, 2019).

Produzir uma emulsão requer a introdução de energia, uma vez que a área interfacial é ampliada, resultando em um aumento na energia livre da interface ou tensão superficial. Esse aumento na energia livre da interface conduz à instabilidade intrínseca de sistemas como emulsões. Portanto, é indispensável algum tipo de estabilização, que é alcançada ao reduzir a tensão superficial por meio da incorporação de surfactantes. A tensão superficial representa a força que reduz a área interfacial de duas fases que não se misturam, e sua presença é responsável pela configuração esférica das gotas de água, uma vez que essa é a geometria que oferece a menor área de superfície para um determinado volume (Tadini *et al.*, 2018).

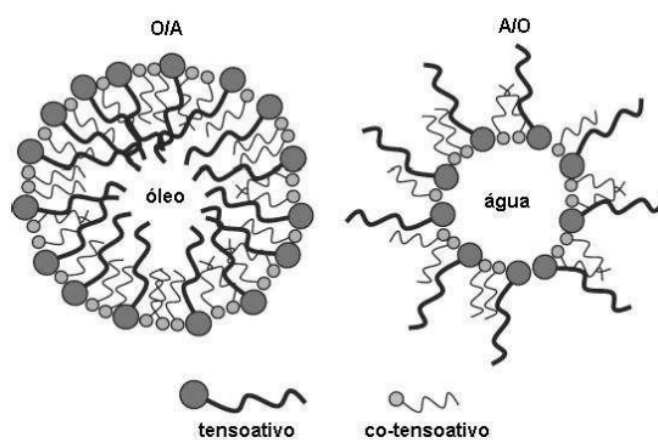
A termodinâmica desempenha um papel crucial na diferenciação entre as microemulsões, que são termodinamicamente estáveis, e as emulsões, que são instáveis termodinamicamente, fazendo com que os agregados se desenvolvam ao longo do tempo, sendo o estado estrutural da emulsão influenciado pela sua preparação (Gradzielski *et al.*, 2021).

Microemulsões são sistemas que possuem estabilidade termodinâmica, são opticamente transparentes, isotrópicos, possuem baixa viscosidade (Silva *et al.*, 2015) e apresentam tamanhos das gotículas menores que 200 nm (Rosen, 2004; Suhail *et al.*, 2021). Essas gotículas são influenciadas de maneira significativa pela ação do tensoativo, que, ao ser introduzido na solução, reduz ainda mais o tamanho das gotículas dispersas em uma das fases, resultando em um sistema que é translúcido e apresenta transparência óptica (Louzeiro, 2012). Já as emulsões possuem dimensões

maiores e resultam na característica de cor branca-leitosa e na falta de transparência (Gomes, 2009).

As microemulsões são compostas de água e óleo e separadas por uma camada monomolecular de moléculas anfifílicas (Paul e Moulik, 1997), sendo um sistema interfacial originado pela organização espontânea de moléculas tensoativas, as quais criam microestruturas dispersas dentro de um meio contendo três ou mais componentes: agente tensoativo, óleo, água e, frequentemente, um cotensoativo (Silva *et al.*, 2015). Podem ser classificadas como microemulsão água em óleo e óleo em água. Para as microemulsões ricas em óleo, a água é incorporada em forma de pequenas gotículas, envolvidas por uma membrana composta pelas moléculas do tensoativo e do cotensoativo. Essas estruturas são reconhecidas como microemulsões de água em óleo (A/O), e nelas se manifestam as gotículas inversas, em que as moléculas anfifílicas na membrana se orientam com a parte lipofílica voltada para o óleo e a parte hidrofílica voltada para a água. Uma configuração comparável é identificada nas microemulsões de óleo em água (O/A), onde ocorrem as gotículas diretas. Nesse caso, a porção polar do tensoativo direciona-se para a fase contínua aquosa, enquanto a parte apolar se direciona para o núcleo hidrofóbico da micela (Gomes, 2009). A Figura 4 mostra a estrutura de uma microemulsão óleo em água e de uma microemulsão água em óleo.

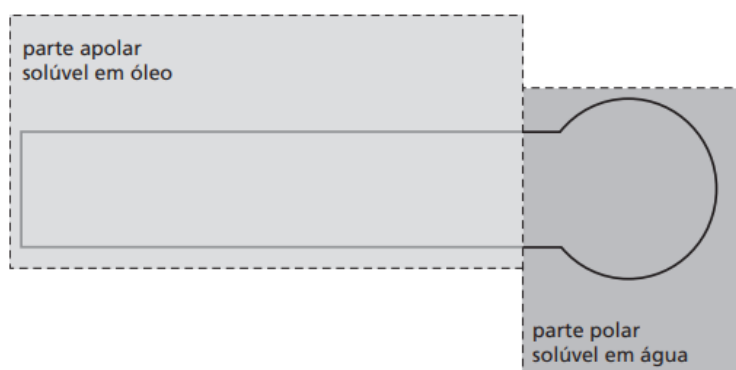
Figura 4 – Estrutura da microemulsão O/A (esquerda) e A/O (direita).



Fonte: Gomes (2009).

Tensoativos, também conhecidos como surfactantes, são compostos anfifílicos e se destacam por possuírem uma estrutura polar e hidrofílica e outra apolar e hidrofóbica, ligadas entre si, como mostra a Figura 5. A porção polar da molécula é composta por átomos que exibem uma distribuição de carga resultando em um polo negativo ou positivo. Por outro lado, a região apolar é geralmente constituída por uma cadeia carbônica, o que evita a formação de polos de carga eletrostática. Os surfactantes são agentes que desempenham o papel de diminuir a tensão interfacial entre duas substâncias imiscíveis, resultando na redução da energia envolvida e viabilizando a dispersão de uma fase na outra (Daltin, 2011).

Figura 5 – Estrutura geral dos surfactantes.



Fonte: Daltin (2011).

Os surfactantes caracterizam-se pela formação de ambientes organizados. Isso ocorre devido à existência simultânea de grupos hidrofílicos e hidrofóbicos na mesma molécula, o que direciona os surfactantes a se distribuírem nas interfaces entre as fases fluidas com diferentes graus de polaridade (por exemplo, óleo/água e água/óleo). A formação de um arranjo molecular ordenado nas interfaces reduz tanto a tensão interfacial quanto a superficial (Silva *et al.*, 2015), sendo empregados para alterar o ambiente reacional, viabilizando a solubilização de espécies com baixa solubilidade (Gomes, 2009).

Os surfactantes são categorizados em quatro tipos principais: aniônicos, não iônicos, catiônicos e anfóteros. Os surfactantes aniônicos possuem uma carga negativa na porção ativa de suas moléculas. Já os surfactantes catiônicos possuem uma cadeia molecular hidrofílica com carga positiva, permitindo a interação com as

moléculas de água. Nos surfactantes anfóteros, a parte ativa da molécula pode conter tanto cargas negativas quanto positivas, conferindo-lhes uma flexibilidade em suas propriedades de interação, enquanto os surfactantes não iônicos não apresentam carga em suas ramificações, interagindo no meio aquoso através de pontes de hidrogênio (Rosen, 2012).

Os cosurfactantes auxiliam na redução adicional da tensão interfacial. Essa redução é necessária para garantir a formação e a estabilidade termodinâmica das microemulsões. Os cosurfactantes também contribuem para a fluidização do filme interfacial formado pelo surfactante, o qual evita um aumento considerável na viscosidade do sistema. A incorporação de um cosurfactante reduz a tensão superficial do sistema a quase zero, o que resulta na criação de uma camada interfacial mais estável e, conseqüentemente, aumenta a estabilidade das microemulsões (Silva *et al.*, 2015).

A formação das emulsões é afetada pela escolha do surfactante, que varia conforme o tipo de emulsão desejada: surfactantes hidrofílicos são utilizados em emulsões O/A, enquanto os hidrofóbicos são mais indicados para emulsões A/O (Tartaro *et al.*, 2020). Além disso, a adição de um cosurfactante é essencial para evitar a repulsão entre as cabeças dos surfactantes (Silva, 2020). A temperatura também desempenha um papel significativo na formação das emulsões, uma vez que o seu aumento promove o desenvolvimento da fase oleosa em detrimento da fase aquosa. Esse aumento de temperatura altera a afinidade do surfactante, tornando-o menos hidrofóbico e mais hidrofílico, resultando em uma maior solubilização na água e conduzindo à dissolução progressiva na microemulsão (Gomes, 2009). Adicionalmente, a presença de sais na formulação reduz a afinidade dos surfactantes iônicos pela água, fazendo com que essas moléculas tenham uma maior afinidade pela fase oleosa (Silva, 2020).

A separação de uma emulsão gerada por agitação mecânica simples, sem a incorporação de aditivos, ocorre de maneira natural, e a estabilidade de tal dispersão será, no melhor dos casos, de apenas alguns segundos. Portanto, para assegurar a formação de uma emulsão estável, é indispensável a presença de elementos adicionais, como surfactantes e cosurfactantes, a fim de conferir estabilidade à emulsão (Gomes, 2009).

3.4.1 Diagrama pseudo-ternário

Os diagramas ternários são empregados para representar misturas de três componentes. No caso de desenvolvimento de microemulsão, os diagramas são chamados de diagramas de fases pseudo-ternárias, pois uma microemulsão é um sistema complexo de óleo, água e emulsificante (surfactante). As microemulsões são formadas espontaneamente, assim que a proporção necessária dos componentes for atingida (Schmidts *et al.*, 2009). O objetivo da construção de diagramas de fases pseudo-ternários é descobrir a região de existência de microemulsões (Moghimpour *et al.*, 2013).

Os diagramas de fases pseudo-ternários possuem a configuração de um triângulo equilátero, onde cada vértice representa cada um dos componentes e as variações das suas concentrações (de 0 a 100%). A análise desses diagramas possibilita identificar as regiões de transição entre emulsões, fases separadas e microemulsões (óleo em água e água em óleo), permitindo assim a determinação das concentrações mínimas de cada componente necessárias para obter uma microemulsão (Silva *et al.*, 2015).

3.5 AZEITE DE OLIVA

Óleos vegetais consistem principalmente em glicerídeos de ácidos graxos de origem vegetal e podem conter quantidades reduzidas de outros lipídeos, como fosfolipídeos, componentes insaponificáveis e ácidos graxos livres que ocorrem naturalmente no óleo (BRASIL, 2005). Sua formação ocorre através da esterificação de uma molécula de glicerol com até três moléculas de ácido graxo (Higuita, 2017).

Segundo a Instrução Normativa nº 1, de 30 de janeiro de 2012, o azeite de oliva é o resultado da extração exclusiva dos frutos da oliveira (*Olea europaea L.*), excluindo-se os óleos adquiridos por meio de solventes, processos de reesterificação ou qualquer mistura com outros óleos. A normativa ainda descreve o azeite de oliva virgem como sendo obtido apenas por processos mecânicos e físicos, em condições térmicas que não causem modificações no produto, e que passe somente por processo de lavagem, decantação, centrifugação e filtração, apresentando acidez livre menor ou igual a 2%, sendo azeites com acidez menor ou igual a 0,8% classificados

como extra virgem. Além disso, tanto o azeite de oliva virgem quanto o extra virgem devem possuir índice de peróxidos menor ou igual a 20 mEq/kg (BRASIL, 2012).

A estrutura do azeite de oliva é majoritariamente constituída por triglicerídeos, aproximadamente 99% e, em menor escala, por ácidos graxos livres, mono e diacilgliceróis, além de uma diversidade de lipídios como hidrocarbonetos, esteróis, tocoferóis, pigmentos, entre outros. No azeite, são identificados os ácidos graxos: palmítico (C16:0), palmitoleico (C16:1), esteárico (C18:0), oleico (C18:1), linoleico (C18:2) e linolênico (C18:3). Os ácidos mirístico (C14:0), heptadecanóico e eicosanóico estão presentes em quantidades reduzidas (Boskou, Blekas e Tsimidou, 2006).

Nos triglicerídeos, os principais ácidos graxos são representados principalmente pelos monoinsaturados (como o ácido oleico), havendo uma pequena quantidade de ácidos saturados (como o palmítico e o esteárico), além da presença de ácidos polinsaturados (como o linoleico e o linolênico). Entre os componentes em menor proporção encontram-se o α -tocoferol, carotenoides, esteróis e compostos fenólicos, entre outros (Viola e Viola, 2009; Meng et al., 2023).

O azeite de oliva virgem obtido a partir de azeitonas de alta qualidade é consumido sem passar por refinamento. Isso resulta em azeites virgens que contêm compostos polares, os quais normalmente são eliminados de outros tipos de azeites comestíveis durante as várias etapas do processo de refinação (Dell'agli e Bosisio, 2002). Os compostos polares pertencem a fração solúvel do azeite, a qual engloba uma diversidade de compostos fenólicos, como hidroxitirosol, tirosol, ácido cafeico, oleuropeína e aglicona, entre outros. Da fração não polar, insolúvel, fazem parte os componentes insaponificáveis. Essas propriedades características do azeite de oliva trazem diversos benefícios à saúde, tais como longevidade, diminuição das chances de desenvolvimento de doenças cardiovasculares e câncer (Fernández del Río *et al.*, 2016).

3.5.1 Oxidação do azeite de oliva

A rancificação é o principal processo responsável por alterar óleos vegetais e alimentos ricos em gordura. A autoxidação de lipídios insaturados provoca

modificações nas qualidades sensoriais, resultando em sabores estranhos (Vichi *et al.*, 2003). Além disso, esse processo pode prejudicar a qualidade e o valor nutricional do produto, devido à formação de compostos de reações secundárias (Poulli, Mousdis e Georgiou, 2009).

A oxidação ocorre nas regiões de insaturação dos ácidos graxos presentes nas moléculas de triglicerídeos. Em termos gerais, quanto mais ligações duplas, maior será a suscetibilidade à deterioração oxidativa (Dell'agli e Bosisio, 2002). A oxidação ocorre a partir da formação de um radical alquil lipídico através da remoção de um átomo de hidrogênio da cadeia do ácido graxo. A reação do oxigênio com esse radical resulta na perda de antioxidantes naturais do azeite de oliva e na formação de peróxidos e hidroperóxidos (Cecchi, Migliorini e Mulinacci, 2021). A fase subsequente envolve a quebra dos peróxidos em compostos menores, como aldeídos, cetonas, álcoois e ácidos de cadeia curta, que são os responsáveis pelos odores desagradáveis característicos da rancidez de gorduras. O radical livre acaba gerando um processo de oxidação adicional, o que faz com que o processo de degradação oxidativa seja considerado um processo autocatalítico (Dell'agli e Bosisio, 2002).

A exposição de um óleo ao oxigênio, calor e luz resulta em oxidação. O oxigênio e o calor, com a luz em menor escala, exercem uma influência notável no processo oxidativo desde a fase inicial de produção até o engarrafamento e o armazenamento do óleo. Porém, durante o armazenamento, a influência da luz se torna mais significativa devido à foto-oxidação pois, o oxigênio singlete, altamente instável e reativo, reage com os ácidos graxos insaturados, levando à formação dos indesejáveis hidroperóxidos (Tarapoulouzi *et al.*, 2022). Os hidroperóxidos se originam por meio de um processo que não envolve radicais livres, caracterizando-se por ser um processo muito rápido. A presença de clorofilas no azeite de oliva virgem justifica por que a exposição à luz é, possivelmente, o principal desencadeador da oxidação e da formação de ranço (Cecchi, Migliorini e Mulinacci, 2021). Dessa forma, é necessário evitar a exposição à luz e, portanto, praticamente todas as garrafas de azeite atualmente comercializadas são opacas (Tarapoulouzi *et al.*, 2022).

Dentre os óleos comestíveis, o azeite de oliva virgem se destaca por sua notável resistência à oxidação não enzimática. Isso se deve principalmente à presença do ácido oleico e de vários compostos antioxidantes (Cecchi, Migliorini e

Mulinacci, 2021), como tocoferóis e compostos fenólicos. Contudo, apesar da sua estabilidade, o azeite de oliva virgem continua sendo suscetível à rancificação (Vichi *et al.*, 2003).

A qualidade do azeite de oliva está fortemente ligada à sua estabilidade oxidativa, sendo a oxidação a principal causa da perda das propriedades nutricionais, sensoriais e da redução da vida útil do azeite (Pelle *et al.*, 2015). Como forma de garantir a qualidade e de forma a aumentar a sua vida útil, os antioxidantes naturais aparecem como uma alternativa viável, pois são considerados mais seguros em relação aos sintéticos (Bouaziz *et al.*, 2008).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 MATERIAIS

A beterraba em pó (*Beta Vulgaris* L.) utilizada para a extração das betalaínas, a lecitina de soja e o óleo mineral empregados nas microemulsões, foram adquiridos no comércio local de Erechim. A ficha técnica da beterraba em pó é apresentada no Anexo A. Os reagentes e solventes utilizados foram fornecidos pelo IFRS – *Campus* Erechim para condução das análises.

4.2 EXTRAÇÃO DE BETALAÍNA POR ULTRASSOM

Para a extração da betalaína, foi realizado um planejamento experimental a partir de um Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) contendo 4 variáveis independentes $2^4 + 3_{\text{pontos centrais}} + 8_{\text{pontos axiais}}$, com variação da temperatura, potência, concentração de etanol (solvente) e razão sólido/líquido (razão mássica beterraba/solvente, RSL), sendo mantido constante o volume total da mistura em 20 mL. As variáveis independentes e seus códigos e níveis são apresentados na Tabela 1, enquanto as formulações utilizadas no delineamento são descritas no Apêndice A. Para os ensaios de extração, o equipamento empregado foi o banho ultrassônico modelo SB 5200-DTDN (NingBo Scientz Biotechnology Co., Ltd, China), com frequência de 40 kHz e potência máxima de 300 W.

Tabela 1 – Variáveis independentes do DCCR da extração e seus códigos e níveis.

Variável	Código	Níveis				
		-2	-1	0	1	2
Potência (%)	X1	10	30	50	70	90
Temperatura (°C)	X2	10	20	30	40	50
Etanol (%)	X3	10	30	50	70	90
RSL (g/mL)	X4	0,025	0,05	0,075	0,1	0,125

Fonte: A autora.

Para a realização do planejamento experimental foram realizados 27 ensaios, cada um destes com suas respectivas concentrações de amostra, solvente, temperatura e potência do equipamento. Inicialmente, 20 mL do solvente foram adicionados em um tubo Falcon e levado ao equipamento e, quando a temperatura estabelecida foi atingida, a amostra em pó foi adicionada. Após a adição da amostra, iniciou-se a sonificação, que foi mantida durante uma hora. Em seguida, o extrato foi centrifugado por 15 minutos a 3600 rpm para posterior análise em espectrofotômetro modelo UV-6300PC (VWR International, LLC).

4.3 QUANTIFICAÇÃO DOS EXTRATOS DE BETALAÍNA OBTIDOS PELOS MÉTODOS DE EXTRAÇÃO

Após a centrifugação, foi realizada a quantificação das betalaínas das amostras através da determinação das duas principais classes do pigmento, betacianina e betaxantina, seguindo o método descrito por Stintzing, Schieber e Carle (2003). Para isso, foram realizadas medições em triplicata no espectrofotômetro a 480 nm, para as betaxantinas, e a 538 nm, para as betacianinas, com o solvente utilizado em cada extração como branco. As amostras foram diluídas com o solvente até obter valores de absorção entre 0,8 e 1 nas medições de 538 nm. A determinação da quantidade de betacianinas e betaxantinas foi realizada através da Equação 1:

$$CB = \frac{A * FD * MM * 1000}{\varepsilon * L} \quad (1)$$

Sendo:

CB = Conteúdo de betacianinas ou betaxantinas (mg/L);

A = Absorção a 538 nm, para a betacianina, ou 480, para betaxantina;

FD = Fator de diluição;

MM = Massa molar da betacianina (550 g/mol) ou da betaxantina (380 g/mol);

ε = Coeficiente molar de absorção da betacianina (60000 L/mol) ou da betaxantina (48000 L/mol);

L = Comprimento do caminho da cubeta (cm);

Para identificar os parâmetros de extração mais apropriados, foi realizada uma análise de variância, de modo a se identificar a condição que apresentou a maior eficiência na extração das betalaínas a partir da beterraba em pó.

4.4 CINÉTICA DA EXTRAÇÃO

Após a obtenção das melhores condições de extração, a partir da análise de variância, foi realizada a análise da cinética da extração, com o objetivo de determinar o melhor tempo de extração do composto. Para isso, 12 amostras foram acondicionadas ao banho ultrassônico e, a cada 10 minutos, uma amostra foi retirada, centrifugada por 15 minutos a 3600 rpm e analisada no espectrofotômetro, de modo a se observar o comportamento da extração durante duas horas.

4.5 EXTRAÇÃO CONVENCIONAL DE BETALAÍNA

A extração convencional foi realizada seguindo adaptações de Ferreira *et al.* (2017) onde 2,5 g de beterraba em pó foram misturados em 20 mL de solvente (água destilada). A solução foi dividida em duas amostras e colocada em tubos Falcon. Uma amostra foi centrifugada em uma centrífuga a 3600 rpm durante 15 minutos, enquanto a outra amostra foi centrifugada nas mesmas condições durante 30 minutos. Após a centrifugação, uma amostra de sobrenadante foi retirada de cada tubo para análise em espectrofotômetro.

4.6 OBTENÇÃO DA MICROEMULSÃO

As microemulsões desenvolvidas foram do tipo água em óleo (A/O). Com base em estudos prévios, para a obtenção das microemulsões realizou-se uma mistura de 4 mL contendo extrato e solvente da extração (fase aquosa), que foi adicionada a mistura do tensoativo lecitina de soja com 16 mL de óleo mineral (fase oleosa). A partir disso, foram testadas diferentes formulações, que variaram a quantidade de lecitina de soja e a concentração da fase aquosa (extrato) a partir de um delineamento experimental, cujos códigos e níveis são apresentados na Tabela 2 e as formulações

são apresentadas no Apêndice B. A lecitina de soja e o óleo mineral foram aquecidos a 40 °C para aumentar a solubilidade. Em seguida, a fase aquosa foi vertida sobre a mistura de óleo mineral e lecitina, aquecido novamente à mesma temperatura, e agitados por 15 minutos. Depois de prontas, as formulações foram colocadas em tubos de ensaio, deixadas a temperatura ambiente e expostas à luz.

Tabela 2 – Variáveis independentes e seus códigos e níveis para o delineamento experimental da microemulsão

Variável	Código	Níveis				
		-1,41	-1	0	1	1,41
Volume de extrato (mL)	Y1	0,6	1	2	3	3,4
Massa de lecitina de soja (mg)	Y2	80	100	150	200	220

Fonte: A autora.

As formulações foram avaliadas durante 10 dias, onde foram observadas a separação de fase e a degradação da cor de cada amostra. A formulação que apresentou melhor estabilidade macroscópica (menor separação de fases) e melhor conservação da cor, foi escolhida como formulação ótima.

Em conjunto com o delineamento experimental citado anteriormente, foram elaborados dois diagramas de fases pseudo-ternários. O objetivo da construção de um diagrama de fases pseudo-ternário é descobrir a região de existência de microemulsões. Para isso, variou-se a quantidade de lecitina, concentração do extrato/água destilada e a quantidade de óleo mineral.

Os diagramas de fase pseudo-ternários foram construídos com base no método da titulação, a partir de várias misturas binárias dos componentes (lecitina de soja e óleo mineral), foram realizadas titulações com o terceiro componente (extrato e água destilada) utilizando uma pipeta e mantendo a mistura titulada em agitação à 40 °C, para manter os componentes homogêneos. As misturas binárias lecitina/óleo mineral foram preparadas nas razões 1:9, 2:8, 3:7, 4:6, 5:5, 6:4, 7:3, 8:2, 9:1, mantendo-se fixo a concentração de extrato/água destilada, em 2:1 e 1:1.

A mistura de extrato e água destilada foi adicionada gota a gota em volumes de 20 µl na mistura de lecitina de soja e óleo mineral aquecida até 40 °C em agitação,

até a obtenção de uma mistura turva, indicando o ponto em que a mistura deixa de ser microemulsão (líquido transparente).

4.7 CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DA MICROEMULSÃO

A estabilidade da microemulsão da betalaína foi avaliada com relação aos parâmetros de cor e separação de fases. Na análise colorimétrica, a medição de cor foi realizada utilizando um colorímetro portátil Minolta (modelo Chroma Meter CR410). Os parâmetros colorimétricos foram obtidos de acordo com a *Commission Internationale de l'Eclairage* (Sistema CIELAB), onde foram determinados os valores de L^* (luminosidade), e das coordenadas a^* (componente vermelho-verde) e b^* (componente amarelo-azul). As medições desses parâmetros foram realizadas a cada 2 dias.

Para a avaliação macroscópica, as formulações foram colocadas em tubos de ensaio, expostas à luz e a temperatura ambiente, e submetidas à avaliação visual, na qual foi avaliada a separação de fases todos os dias. Além dos parâmetros anteriores, realizou-se a análise do tamanho de partícula e *span* em parceria com a Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). Para esta análise, as amostras de microemulsões foram avaliadas em duplicata no analisador de dispersões LUMiSizer® (LUM GmbH, Alemanha), que utiliza a tecnologia STEP® para a criação de perfis de extinção da luz resolvidos no espaço e no tempo para a determinação do tamanho das partículas (LUM GmbH, 2024).

4.8 APLICAÇÃO DA MICROEMULSÃO NO AZEITE DE OLIVA EXTRA VIRGEM

A microemulsão de betalaína foi testada como antioxidante para manter a estabilidade do azeite de oliva extra virgem durante o seu armazenamento em condições aceleradas. Para isso, as amostras foram acondicionadas em *Erlenmeyer* contendo 50 mL de azeite de oliva extra virgem mais sua respectiva porcentagem de microemulsão de betalaínas (5% ou 10%). Como controle, o azeite de oliva extra virgem também foi armazenado sem a adição dos antioxidantes, nas mesmas condições do azeite adicionado de microemulsão. As amostras foram armazenadas

sob a incidência de luz, oxigênio e à temperatura ambiente e foram analisadas após 2, 6, 10, 16 e 24 dias de armazenamento para a determinação do índice de peróxidos e cor.

4.9 AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE OXIDATIVA POR ÍNDICE DE PERÓXIDO E COR

Para a determinação do índice de peróxido, inicialmente foram pesadas 5 g de cada amostra, adicionadas em *Erlenmeyer*. Simultaneamente, no primeiro dia de análise, foi conduzido um ensaio em branco (sem a amostra). Em seguida, foi adicionado 30 mL da solução de ácido acético e clorofórmio (proporção 3:2). Após a dissolução da solução de ácido acético e clorofórmio, foi acrescentado 0,5 mL da solução saturada de iodeto de potássio. Logo após, foi adicionado 30 mL de água destilada e 1,0 mL da solução aquosa de amido a 1%. Por fim, a solução final foi titulada com uma solução de tiosulfato de sódio 0,1 N e a quantidade de titulante gasta foi usada para calcular o teor de peróxidos do azeite de oliva extra virgem. O cálculo para o índice de peróxido das amostras foi realizado com a Equação 3:

$$\text{Índice de peróxido} \left(\frac{mEq}{kg \text{ de amostra}} \right) = (A - B) * N * FC * \frac{1000}{P} \quad (3)$$

Onde:

A = volume em mL da solução de $Na_2SO_2O_3$ (tiosulfato de sódio) gasta para a amostra;

B = volume em mL da solução de $Na_2SO_2O_3$ gasta para o branco;

N = normalidade da solução de $Na_2SO_2O_3$;

P = peso em grama da amostra;

FC = fator de correção da solução de tiosulfato de sódio 0,1 N.

A análise de cor do azeite de oliva extra virgem seguiu a mesma metodologia empregada na análise colorimétrica da microemulsão, descrita no item 4.7.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 QUANTIFICAÇÃO DE BETALAÍNAS EXTRAÍDAS POR ULTRASSOM

Os resultados do conteúdo de betacianinas e betaxantinas obtidos a partir das extrações realizadas seguindo o Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) são apresentados na Tabela 3.

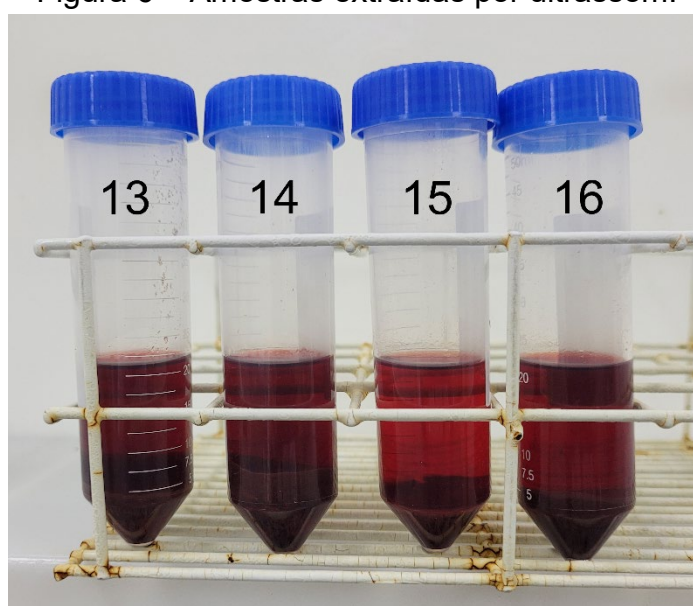
Tabela 3 – Conteúdo de betacianinas e betaxantinas.

Ensaio	Potência (%)	Temperatura (°C)	Etanol (%)	RSL (g/mL)	Conteúdo de betacianina (mg/L)	Conteúdo de betaxantina (mg/L)
1	30	20	30	0,05	42,28 ± 0,32	30,11 ± 0,22
2	30	20	30	0,1	56,71 ± 0,21	40,34 ± 0,24
3	30	20	70	0,05	15,86 ± 0,28	13,43 ± 0,22
4	30	20	70	0,1	35,44 ± 0,52	27,97 ± 2,87
5	30	40	30	0,05	23,42 ± 0,08	17,17 ± 0,12
6	30	40	30	0,1	52,88 ± 0,38	38,82 ± 0,64
7	30	40	70	0,05	14,11 ± 0,04	12,63 ± 0,05
8	30	40	70	0,1	21,62 ± 0,68	18,99 ± 0,59
9	70	20	30	0,05	41,20 ± 0,23	30,02 ± 0,24
10	70	20	30	0,1	53,71 ± 0,24	38,13 ± 0,21
11	70	20	70	0,05	28,49 ± 0,07	23,88 ± 0,09
12	70	20	70	0,1	50,48 ± 3,36	41,14 ± 2,89
13	70	40	30	0,05	37,54 ± 0,41	28,55 ± 0,33
14	70	40	30	0,1	39,76 ± 0,72	29,35 ± 0,56
15	70	40	70	0,05	26,48 ± 0,35	23,41 ± 0,14
16	70	40	70	0,1	45,87 ± 0,73	39,86 ± 0,54
17	10	30	50	0,075	40,91 ± 0,16	31,76 ± 0,12
18	90	30	50	0,075	57,02 ± 1,21	44,97 ± 0,92
19	50	10	50	0,075	34,46 ± 0,83	26,94 ± 0,63
20	50	50	50	0,075	45,28 ± 0,82	36,62 ± 0,65
21	50	30	10	0,075	39,63 ± 0,61	27,30 ± 0,43
22	50	30	90	0,075	2,03 ± 0,01	3,43 ± 0,01
23	50	30	50	0,025	16,59 ± 0,07	13,53 ± 0,04
24	50	30	50	0,125	68,65 ± 3,51	53,32 ± 2,85
25	50	30	50	0,075	36,57 ± 0,23	28,63 ± 0,17
26	50	30	50	0,075	39,32 ± 0,32	30,99 ± 0,20
27	50	30	50	0,075	50,27 ± 2,09	39,42 ± 1,66

Fonte: A autora.

A Figura 6 apresenta algumas das amostras extraídas pelo ultrassom. É possível observar que houve diferença de tonalidade entre as amostras. A amostra 15, que possui aparência mais clara, registrou menor teor de betalaínas, enquanto que as amostras 13, 14 e 16, que exibem uma coloração mais escura, apresentaram um teor de betalaínas mais elevado, sendo as betacianinas, responsáveis pela cor vermelha, as betalaínas mais influentes na cor final dos extratos.

Figura 6 – Amostras extraídas por ultrassom.

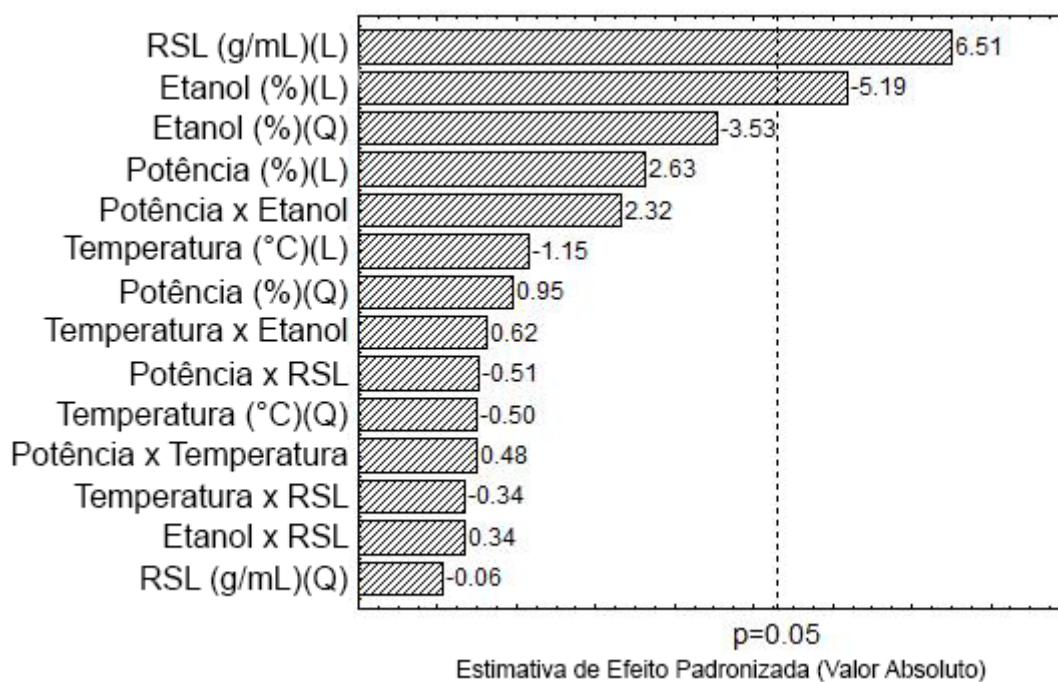


Fonte: A autora.

5.1.1 Quantificação de betacianinas

Os resultados de conteúdo de betacianinas obtidos na Tabela 3 foram submetidos a uma análise de variância (ANOVA) com 95% de confiança. Os resultados da análise de variância são apresentados no diagrama de Pareto da Figura 7, que valida o modelo matemático linear quadrático para a extração de betacianinas com $R^2 = 0,88$ e $F_{\text{teste}} = 6,08$.

Figura 7 – Diagrama de Pareto para o conteúdo de betacianinas.

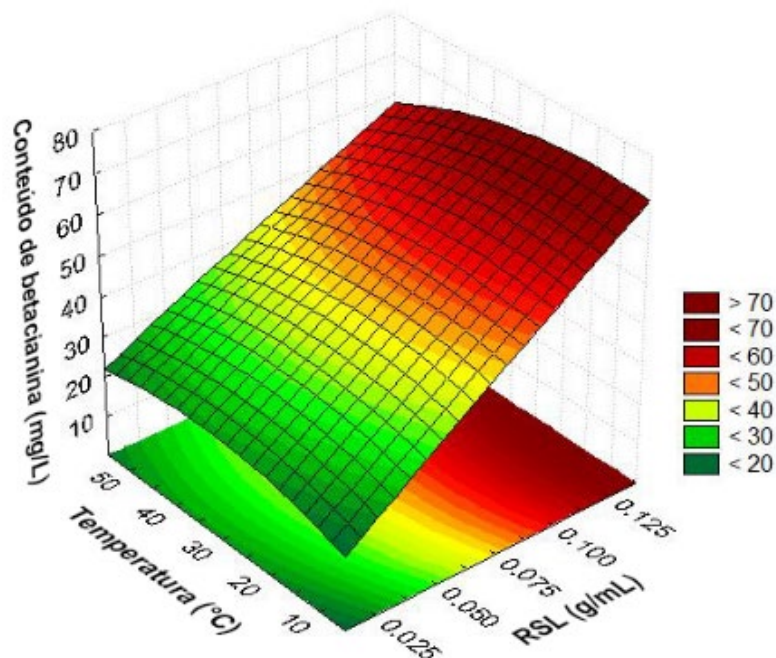


Fonte: A autora.

Conforme a análise de variância, a razão sólido/líquido foi o parâmetro com maior influência significativa, demonstrando que maiores quantidades de soluto geram extratos com maior concentração de betacianinas. A porcentagem de etanol no solvente também influenciou significativamente a extração de betacianinas, porém esta afetou de forma negativa a extração, demonstrando que quanto maior a porcentagem de etanol, menor é a quantidade extraída de betacianinas. Sivakumar et al. (2009) obtiveram menores rendimentos com concentrações de etanol superiores a 50% e Roriz et al. (2017), afirmaram que extrações com concentrações de etanol maiores que 20% apresentaram menor rendimento devido a polaridade das betalainas, que apresentam maior afinidade com a água.

As demais variáveis independentes não apresentaram efeito significativo para a extração de betacianinas por ultrassom. O gráfico de superfície de resposta da Figura 8 apresenta a relação entre a razão sólido/líquido da amostra com a temperatura de extração.

Figura 8 – Gráfico de superfície de resposta de temperatura (°C) x RSL (g/mL) para as betacianinas.



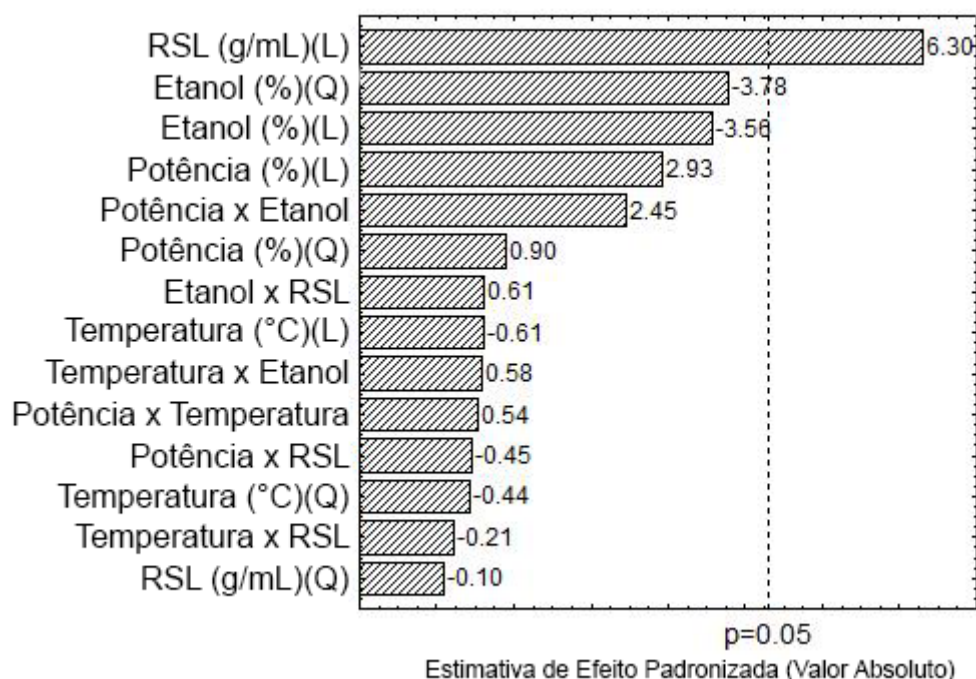
Fonte: A autora.

Observa-se que o aumento da razão sólido/líquido gera maiores valores de conteúdo de betacianinas, demonstrando a sua alta solubilidade em água (Khan, 2016) e, assim, permitindo quantidades maiores de beterraba em pó na extração. Já a temperatura da extração promoveu pouca variação no conteúdo de betacianinas extraída, principalmente pelos valores utilizados estarem contidos na faixa de temperatura estável das betalaínas, que se degradam em temperaturas superiores à 50 °C (Sadowska-Bartosz e Bartosz, 2021).

5.1.2 Quantificação de betaxantinas

Os dados de conteúdo de betaxantina da Tabela 3 também foram analisados utilizando uma análise de variância (ANOVA) com um nível de confiança de 95%. O resultado da análise é apresentado no diagrama de Pareto da Figura 9, que valida o modelo matemático linear quadrático para a extração de betaxantinas com $R^2 = 0,86$ e $F_{\text{teste}} = 5,31$.

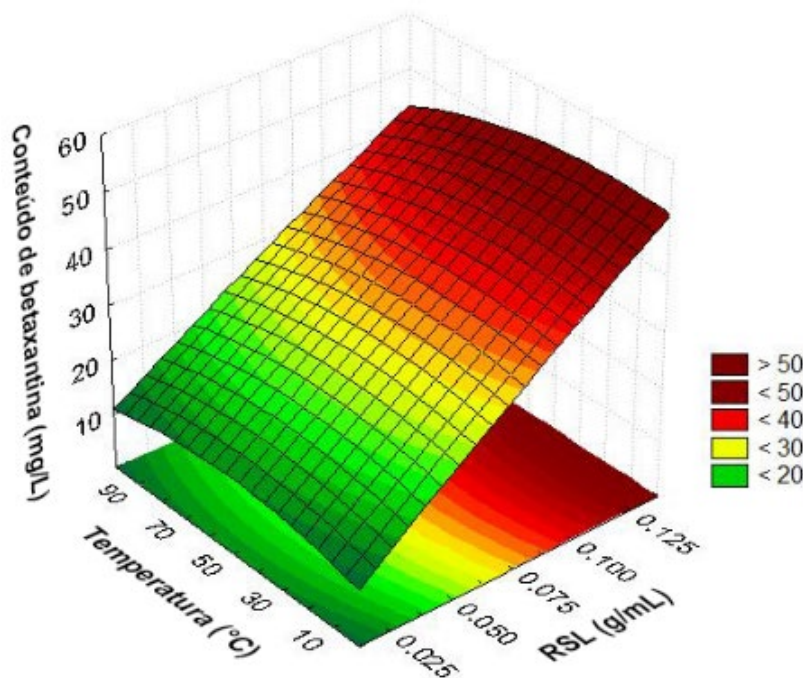
Figura 9 – Diagrama de Pareto para o conteúdo de betaxantinas.



Fonte: A autora.

Observa-se que, para a extração de betaxantinas, apenas a razão sólido/líquido foi significativa, de modo que uma maior quantidade de beterraba em pó gerou extrações com maior concentração de betaxantinas, assim como nas betacianinas. A Figura 10 apresenta o gráfico de superfície de resposta de temperatura (°C) x RSL (g/mL), onde é possível observar o aumento da concentração de betaxantinas extraída com o aumento da razão sólido/líquido, bem como a pouca influência da temperatura na extração, assim como observado nas betacianinas, demonstrando sua alta solubilidade em água.

Figura 10 – Gráfico de superfície de resposta de temperatura (°C) x RSL (g/mL) para as betaxantinas.

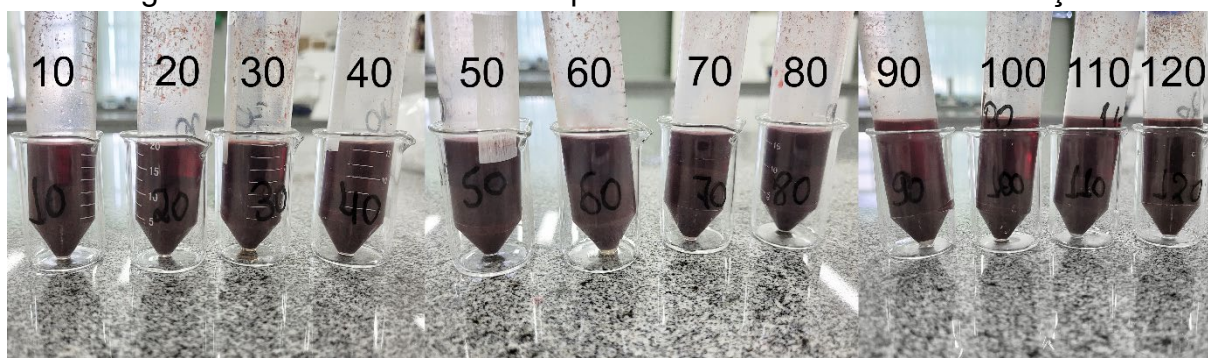


Fonte: A autora.

5.1.3 Cinética da extração

A partir dos resultados da análise de variância, foi realizada uma cinética da extração, de modo a se determinar o tempo ideal de extração por ultrassom. Para isso, foram selecionados os parâmetros significativos da extração em seus pontos ideais dentro dos valores utilizados no planejamento experimental, com a razão sólido/líquido máxima, de 0,125 g/mL e a concentração de etanol mínima, de 10%. Os demais parâmetros, que não foram significativos segundo a análise, foram selecionados de forma a se ter o menor gasto possível de energia. Para isso, utilizou-se potência do ultrassom de apenas 10% e temperatura de 20° C, de modo a não necessitar o aquecimento ou resfriamento das amostras. Uma amostra foi retirada a cada 10 minutos de extração, por 120 minutos. As amostras obtidas na cinética da extração são apresentadas na Figura 11.

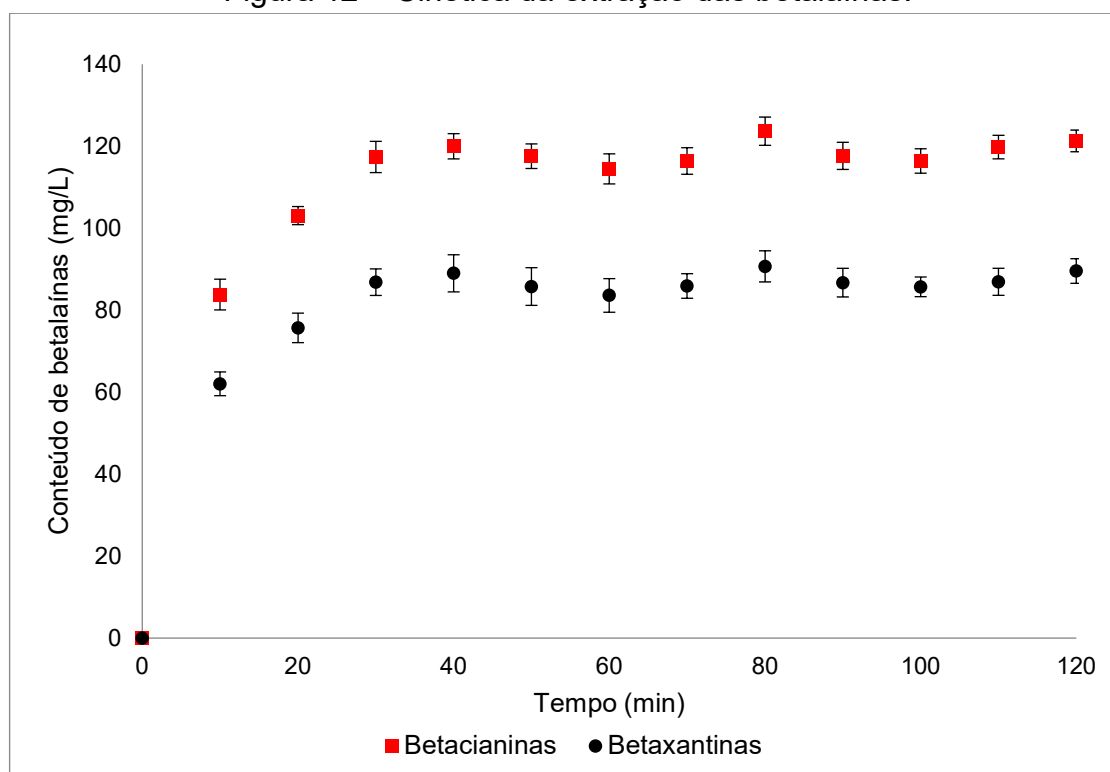
Figura 11 – Amostras extraídas por ultrassom na cinética da extração.



Fonte: A autora

É possível observar que, ao contrário da extração inicial, não houve variação significativa na aparência das amostras, pois todas apresentaram coloração escura. Os resultados da cinética da extração são apresentados no gráfico da Figura 12, que apresenta os conteúdos extraídos de betacianinas e betaxantinas em função do tempo de extração por ultrassom.

Figura 12 – Cinética da extração das betalaínas.



Fonte: A autora.

O gráfico demonstra que os conteúdos de betacianinas e betaxantinas apresentaram comportamento muito similares, com crescimento do conteúdo de extrato até o tempo de 40 minutos. A partir desse tempo, houve uma estabilização do conteúdo de extrato das amostras, demonstrando que o tempo ideal de extração, tanto para a betacianina quanto para a betaxantina, foi de 40 minutos. Neste tempo de extração, o conteúdo de betacianinas foi de $121,3 \pm 2,08$ mg/L e o conteúdo de betaxantinas foi de $93,25 \pm 3,53$ mg/L. Šeremet et al. (2022) obtiveram resultados inferiores na extração de betacianina do extrato da casca da beterraba, com valores em torno de $90,1 \pm 0,1$ mg/L, enquanto que Barbu et al. (2020) encontraram valores de conteúdo de betacianinas de 147.90 ± 5.20 mg/L e de betaxantinas de 64.68 ± 1.00 mg/L em extratos de beterraba fresca.

5.2 EXTRAÇÃO CONVENCIONAL

Os valores obtidos na extração convencional de betalaínas a partir de beterraba em pó são apresentados na Tabela 4. A extração convencional de betalaínas resultou em valores de conteúdo de betacianinas e betaxantinas inferiores aos obtidos pela extração assistida por ultrassom, devido ao efeito de cavitação gerado pelo ultrassom, que amplifica a transferência de massa e facilita o acesso do solvente às betalaínas (Nirmal, Mereddy e Maqsood, 2021), enquanto o método convencional utilizou apenas a centrifugação. Além disso, observou-se que um tempo de centrifugação maior aumentou levemente o conteúdo de betalaínas.

Tabela 4 – Conteúdo de betalaínas obtido a partir da extração convencional.

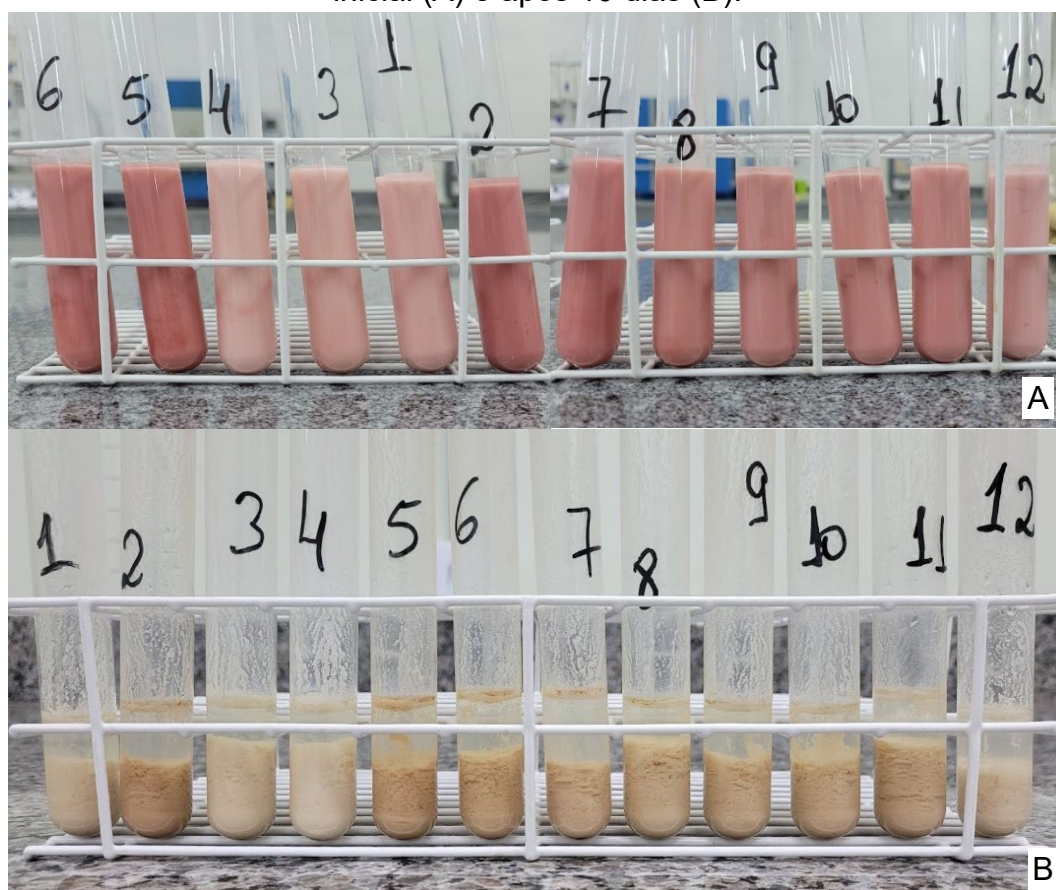
Tempo de centrifugação (minutos)	Conteúdo de betacianinas (mg/L)	Conteúdo de betaxantinas (mg/L)
15	$52,926 \pm 0,310$	$34,351 \pm 0,368$
30	$57,56 \pm 1,169$	$36,327 \pm 0,879$

Fonte: A autora.

5.3 OBTENÇÃO DAS MICROEMULSÕES

A partir do delineamento experimental foram elaboradas 12 microemulsões, que são apresentadas na Figura 13, no tempo inicial e após 10 dias. Ao final do experimento observou-se separação de fases nas amostras, possivelmente devido à baixa quantidade de tensoativo (lecitina de soja) utilizada no delineamento experimental.

Figura 13 – Microemulsões elaboradas a partir do delineamento experimental no dia inicial (A) e após 10 dias (B).



Fonte: A autora.

As amostras com maior teor de extrato apresentaram coloração escura, porém, ao final do ensaio, todas as amostras sofreram degradação de cor, decorrente da exposição à luz em que as amostras foram submetidas. A análise colorimétrica das amostras no dia inicial e após 10 dias é apresentada na Tabela 5.

Tabela 5 – Análise colorimétrica das microemulsões obtidas no delineamento experimental no dia inicial e após 10 dias.

Ensaio	Cor L*		Cor a*		Cor b*	
	Dia 1	Dia 10	Dia 1	Dia 10	Dia 1	Dia 10
1	66,45 ± 0,81	72,01 ± 0,93	11,15 ± 0,65	2,16 ± 0,32	18,80 ± 0,12	23,48 ± 0,16
2	54,65 ± 0,78	60,38 ± 0,82	17,85 ± 0,52	7,54 ± 0,55	19,51 ± 0,13	23,08 ± 0,24
3	66,39 ± 0,84	71,58 ± 0,70	10,48 ± 0,61	1,62 ± 0,35	19,44 ± 0,02	23,39 ± 0,12
4	69,23 ± 0,94	73,75 ± 0,74	8,93 ± 0,32	0,75 ± 0,21	18,41 ± 0,20	22,45 ± 0,14
5	54,10 ± 1,06	60,15 ± 1,12	18,29 ± 0,78	7,65 ± 0,61	19,75 ± 0,16	23,48 ± 0,25
6	56,15 ± 1,12	61,67 ± 1,02	19,75 ± 0,94	6,09 ± 0,47	19,66 ± 0,26	23,86 ± 0,24
7	58,83 ± 1,21	64,51 ± 1,02	16,68 ± 0,77	5,02 ± 0,32	19,44 ± 0,15	23,38 ± 0,18
8	60,36 ± 1,11	65,89 ± 0,88	16,29 ± 0,83	4,09 ± 0,35	19,88 ± 0,30	24,01 ± 0,25
9	59,84 ± 1,18	65,14 ± 0,85	14,42 ± 0,55	4,81 ± 0,29	19,67 ± 0,21	23,87 ± 0,19
10	59,88 ± 0,84	65,27 ± 0,90	14,93 ± 0,32	4,83 ± 0,34	19,66 ± 0,24	23,95 ± 0,19
11	59,27 ± 1,23	64,86 ± 1,11	14,88 ± 0,50	4,77 ± 0,44	19,81 ± 0,14	23,56 ± 0,20
12	70,42 ± 1,03	72,97 ± 1,13	10,34 ± 0,38	1,55 ± 0,21	18,25 ± 0,39	22,95 ± 0,26

Fonte: A autora.

Todas as amostras apresentaram comportamento similar, com o aumento das coordenadas L* e b*, representando o clareamento das amostras (luminosidade) e o aumento da tonalidade amarela, respectivamente, e redução da coordenada a*, indicando a diminuição da cor vermelha pela degradação das betacianinas, responsáveis pela coloração avermelhada, durante a exposição à luz. Esse comportamento colorimétrico na degradação das betalaínas também foi verificado por Gandía-Herrero et al. (2013) e por Lombardelli et al. (2021). Woo et al. (2011) encontraram em suas pesquisas que a exposição à luz por uma semana gerou a degradação de aproximadamente 50% do conteúdo de betacianinas.

Observou-se ainda que as amostras que apresentaram menor degradação de cor, ou seja, maiores valores para a coordenada a* após 10 dias (números 2, 5 e 6), possuíam maior teor de extrato na formulação. A partir dos resultados obtidos no delineamento experimental, foram elaboradas novas microemulsões com o maior valor de extrato utilizado, de 3,4 mL, e maiores quantidades de tensoativo lecitina de soja, conforme valores apresentados na Tabela 6.

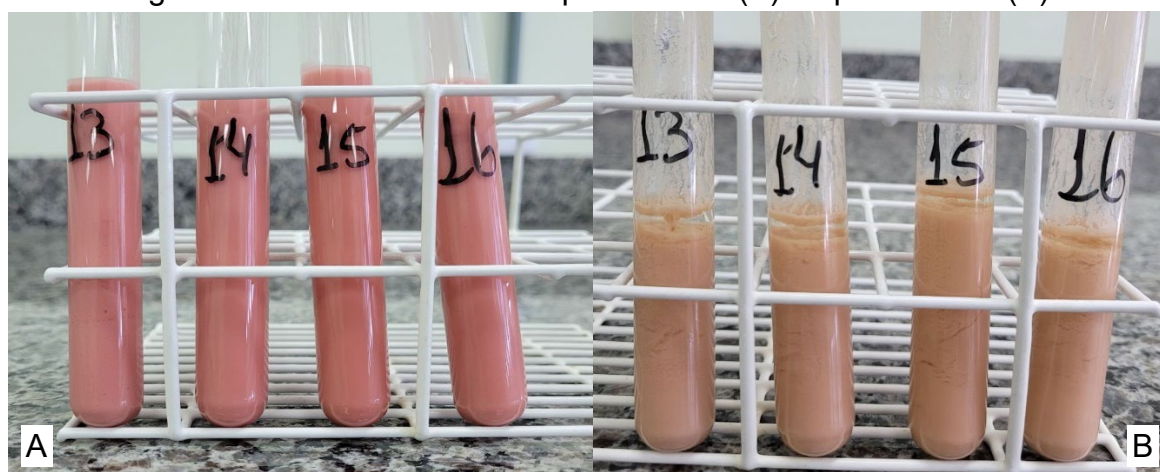
Tabela 6 – Novas formulações de microemulsões.

Amostra	Volume de extrato (mL)	Massa de lecitina de soja (mg)
13	3,4	200
14	3,4	250
15	3,4	300
16	3,4	350

Fonte: A autora.

A Figura 14 mostra as novas amostras no dia inicial e após 10 dias. Observe-se que houve menor separação de fases do que nas amostras anteriores, devido a maior concentração de tensoativo utilizada. A análise colorimétrica é apresentada na Tabela 7.

Figura 14 – Microemulsões no primeiro dia (A) e após 10 dias (B).



Fonte: A autora.

Tabela 7 – Análise colorimétrica das novas microemulsões.

Ensaio	Cor L*		Cor a*		Cor b*	
	Dia 1	Dia 10	Dia 1	Dia 10	Dia 1	Dia 10
13	54,74 ± 1,02	60,43 ± 0,95	21,60 ± 0,72	7,68 ± 0,32	18,68 ± 0,58	22,42 ± 0,50
14	53,28 ± 1,11	58,64 ± 0,98	21,86 ± 0,63	8,00 ± 0,25	18,92 ± 0,30	22,79 ± 0,44
15	52,21 ± 0,98	59,55 ± 1,23	22,91 ± 0,77	7,86 ± 0,24	19,59 ± 0,66	23,24 ± 0,58
16	53,54 ± 1,22	60,17 ± 1,24	21,26 ± 0,72	7,74 ± 0,36	19,01 ± 0,61	23,17 ± 0,72

Fonte: A autora.

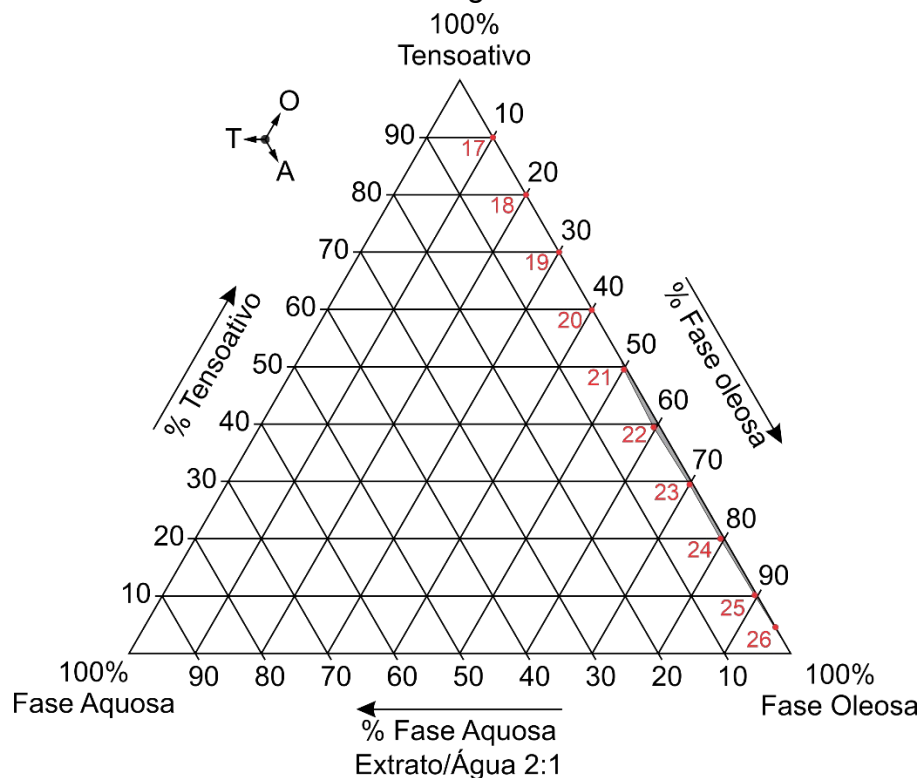
As amostras também apresentaram comportamento de degradação de cor, devido a exposição à luz. Contudo, após 10 dias, todas as amostras apresentaram coordenadas a* maiores do que no ensaio prévio, demonstrando maior conservação

da cor vermelha e, conseqüentemente, menor degradação das betalaínas, devido a maior estabilidade da microemulsão. A redução da taxa de degradação de extrato de betalaínas em microemulsões também foi observada por Mohammed, Ishwarya e Nisha (2021), que verificaram que extrato de betalaínas aplicado em microemulsões A/O/A mais estáveis sofreram menor degradação do que extratos não encapsulados e microemulsões menos estáveis, nas mesmas condições. A amostra 14, que apresentou menor degradação de cor e boa estabilidade foi escolhida para a aplicação no azeite de oliva extra virgem.

5.3.1 Diagrama de fases pseudo-ternário

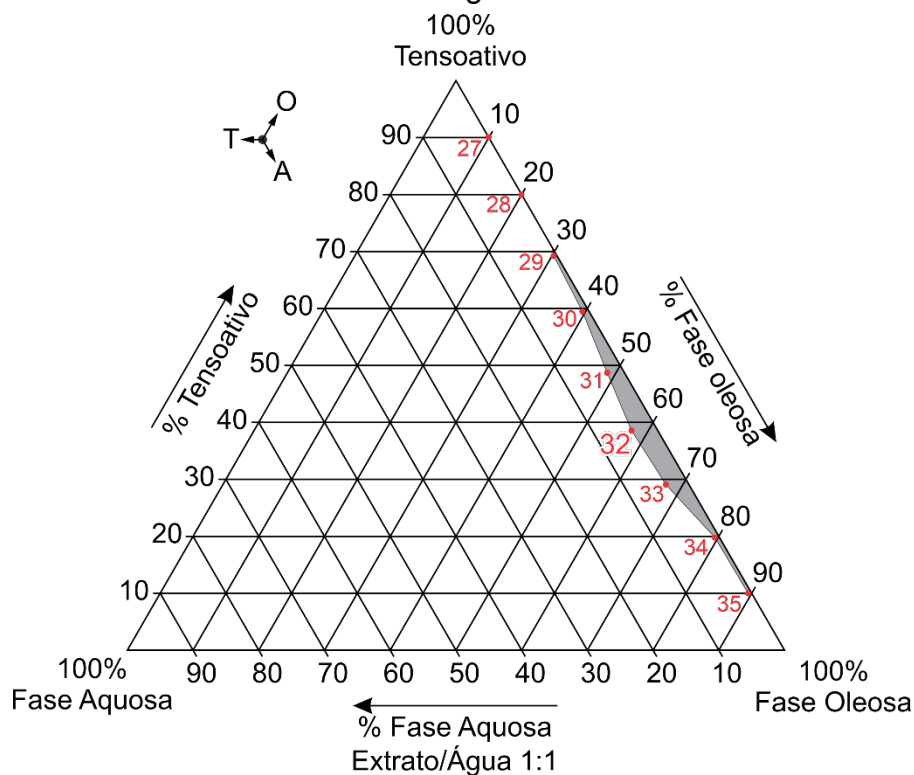
Os diagramas de fases pseudo-ternários que indicam as regiões de composições líquidas transparentes das microemulsões são apresentados na Figura 15, para razões de extrato/água de 2:1 e na Figura 16, para razões de extrato/água de 1:1. Essas razões foram os ajustes em que foi possível a maior adição de extrato.

Figura 15 – Diagrama pseudo-ternário para microemulsão com razão de extrato/água 2:1.



Fonte: A autora.

Figura 16 – Diagrama pseudo-ternário para microemulsão com razão de extrato/água 1:1.



Fonte: A autora.

As microemulsões elaboradas, enumeradas de 17 a 35, são apresentadas nos seus respectivos pontos nos diagramas. Observa-se que no primeiro diagrama pseudo-ternário, com razão extrato/água de 2:1, a região de formação de microemulsões é muito pequena, ocorrendo predominantemente em baixas quantidades de fase aquosa (até 1%) e com as melhores condições para a formação dessas estruturas sendo encontradas em razões de óleo/tensoativo de 6:4, devido a maior quantidade de fase aquosa (extrato) incorporada na microemulsão. Já no segundo diagrama pseudo-ternário, com razão extrato/água de 1:1, observou-se que a região de formação de microemulsões foi significativamente maior, ocorrendo com quantidades de fase aquosa de até aproximadamente 5% do peso total, permitindo maiores quantidades de extrato de betalaínas nas microemulsões, mesmo com a menor razão extrato/água. Assim como nos resultados anteriores, as melhores condições para a formação de microemulsões continuam a ser em razões de óleo/tensoativo de 6:4.

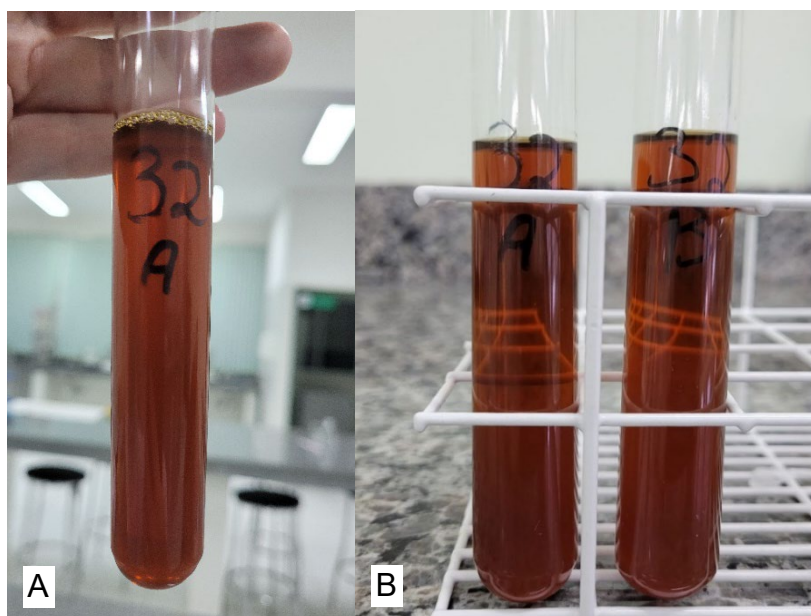
A análise dos diagramas pseudo-ternários permitiu a seleção da amostra ideal para a aplicação no azeite de oliva extra virgem, levando em consideração a maior quantidade de extrato incorporado na microemulsão, mas ainda mantendo a sua estabilidade termodinâmica. A formulação escolhida, de número 32, apresentou uma razão extrato/água de 1:1, uma proporção óleo/tensoativo de 6:4, e teve uma fase aquosa correspondente a 4,76% do total em peso, com sua composição sendo apresentada na Tabela 8. A amostra 32, é apresentada na Figura 17, no dia inicial e após 14 dias de exposição à luz solar.

Tabela 8 – Composição da microemulsão 32.

Componentes	Amostra 32
Óleo mineral (mL)	6
Lecitina de soja (g)	4
Extrato (mL)	0,25
Água destilada (mL)	0,25

Fonte: A autora.

Figura 17 – Microemulsão ideal selecionada a partir do diagrama pseudo-ternário no dia inicial (A) e após 14 dias de exposição à luz (B).



Fonte: A autora.

É possível observar que a amostra apresentou aparência translúcida, característica principal das microemulsões, e não apresentou separação de fases. A amostra escolhida também foi submetida a uma análise colorimétrica, representada na Tabela 9.

Tabela 9 – Análise colorimétrica da microemulsão número 32.

Amostra	Cor L*		Cor a*		Cor b*	
	Dia 1	Dia 14	Dia 1	Dia 14	Dia 1	Dia 14
32	44,05 ± 1,71	44,41 ± 0,36	13,45 ± 0,18	13,39 ± 0,09	24,55 ± 2,45	24,74 ± 0,58

Fonte: A autora.

Observa-se que houve pouca variação em todas as coordenadas de cor, mesmo após 14 dias de exposição a luz. De modo a verificar se a maior concentração de lecitina de soja mascarou a degradação das betalaínas, uma mistura com as mesmas concentrações de lecitina de soja e óleo mineral da microemulsão 32, mas sem extrato de betalaínas, denominada 32 S/E, foi submetida a análise colorimétrica, conforme é apresentado na Tabela 10.

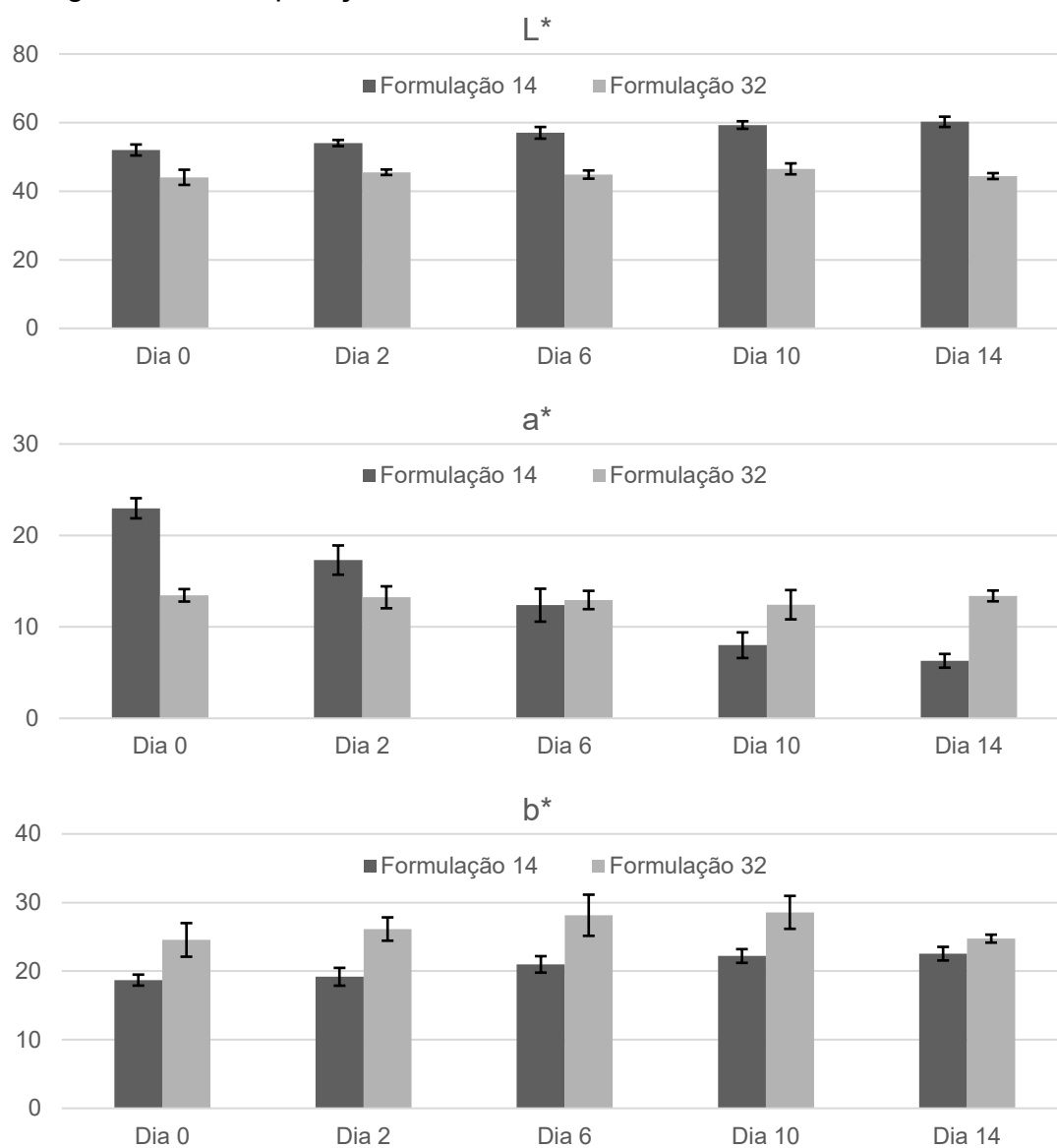
Tabela 10 – Análise colorimétrica da microemulsão 32 sem extrato.

Amostra	Cor L*		Cor a*		Cor b*	
	Dia 1	Dia 14	Dia 1	Dia 14	Dia 1	Dia 14
32 S/E	52,82 ± 0,89	53,64 ± 0,78	7,87 ± 0,35	7,54 ± 0,45	37,20 ± 1,03	37,98 ± 0,88

Fonte: A autora.

Identifica-se pouca variação de cor em todas as coordenadas após 14 dias, indicando que não há alteração na coloração da lecitina de soja ou do óleo mineral com a exposição a luz. Observa-se ainda que a amostra sem extrato apresentou menor tonalidade avermelhada em todos os dias de análise, em decorrência da ausência do extrato de betalaínas. Devido a esses fatores, comprova-se que ocorreu pouca degradação das betalaínas presentes, mostrando que a microemulsão 32 apresentou alta estabilidade. A Figura 18 apresenta uma comparação das coordenadas de cores das amostras 14 e 32, que foram selecionadas para a aplicação no azeite de oliva extra virgem.

Figura 18 – Comparação da análise colorimétrica das amostras 14 e 32.



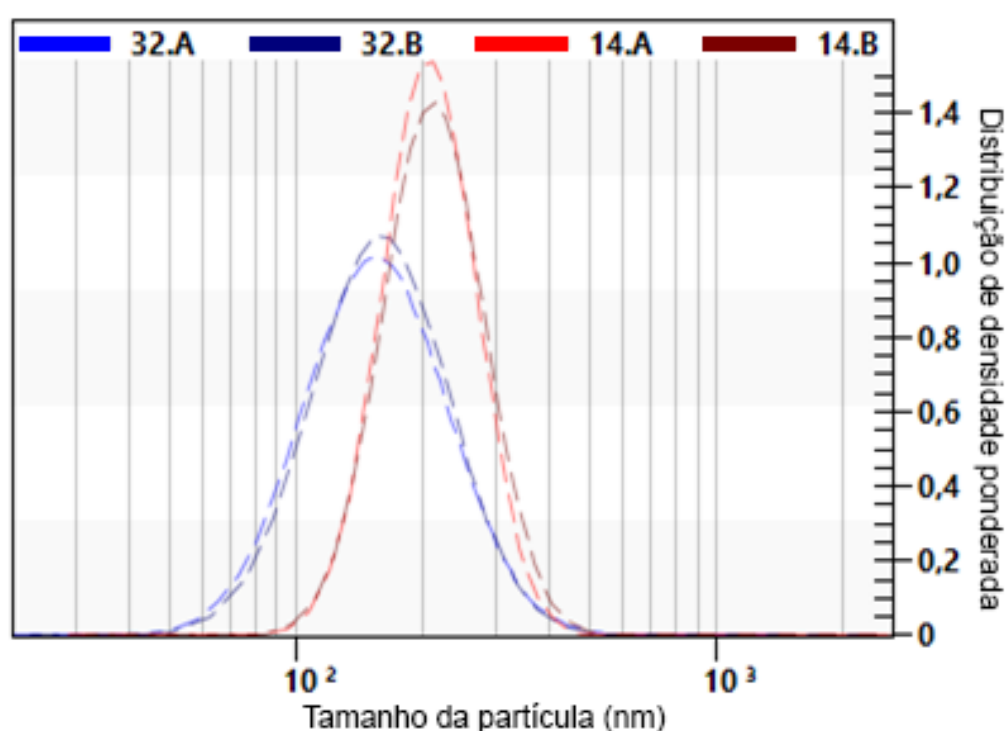
Fonte: A autora.

A amostra 32 apresentou comportamento mais uniforme durante a exposição à luz, enquanto a amostra 14, que possuía maiores valores da coordenada a* inicialmente por sua maior quantidade de extrato, teve maior degradação com o tempo, até atingir valores inferiores aos da amostra 32.

5.3.2 Análise de tamanho de partícula

A distribuição dos tamanhos de partícula das microemulsões de betalaínas, obtida pela análise no equipamento LUMiSizer®, é apresentada no gráfico da Figura 19.

Figura 19 – Distribuição do tamanho das partículas das microemulsões de betalaínas.



Fonte: A Autora.

Observa-se que as duas microemulsões apresentaram distribuições unimodais. A microemulsão 32 apresentou um tamanho de partícula médio de $145,05 \pm 2,61$ nm, com um *span* de 0,898, demonstrando uma distribuição com pequena variação do tamanho das partículas, sendo assim uma microemulsão homogênea. Já a microemulsão 14 exibiu um tamanho de partícula médio maior, de $205,7 \pm 5,23$ nm, e um *span* ligeiramente maior, de 0,908, indicando uma faixa de tamanho das partículas de maior tamanho em comparação com a microemulsão 32.

Os resultados obtidos foram menores do que os encontrados por Antonio et al. (2021), que observaram valores entre 664 e 949 nm para microemulsões A/O de betalaínas utilizando *Tween* 80 como tensoativo, e por Parralejo-Sanz et al. (2023),

que encontraram tamanhos de partículas em emulsões de betalaínas do tipo A/O/A com diâmetros médios de 1750 ± 430 nm, utilizando *Tween* 20 como tensoativo.

5.4 APLICAÇÃO NO AZEITE DE OLIVA EXTRA VIRGEM

A partir dos resultados das microemulsões, as duas amostras foram preparadas novamente em duplicata para a aplicação no azeite de oliva extra virgem, nas proporções apresentadas na Tabela 11:

Tabela 11 – Formulações das amostras das microemulsões utilizadas para a aplicação no azeite de oliva extra virgem.

Componentes	Amostra 14	Amostra 32
Óleo mineral (mL)	20	18
Lecitina de soja (g)	0,3125	12
Extrato (mL)	4,25	0,75
Etanol 10% / Água destilada (mL)	0,75	0,75

Fonte: A autora.

As microemulsões foram então aplicadas em 50 mL de azeite de oliva extra virgem, conforme as quantidades da Tabela 12.

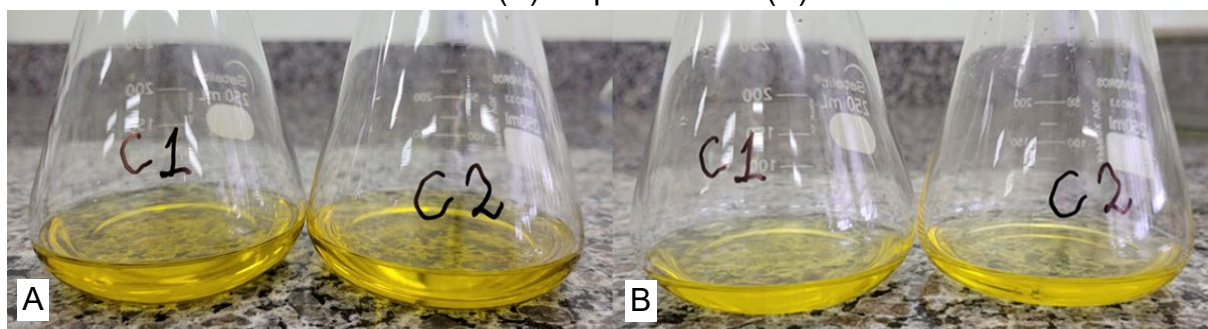
Tabela 12 – Quantidades das microemulsões aplicadas no azeite de oliva extra virgem.

Amostra	Quantidade de microemulsão (%)
14 A e 14 B	5
14 C e 14 D	10
32 A e 32 B	5
32 C e 32 D	10
Controle (C1 e C2)	0

Fonte: A autora.

As amostras de azeite de oliva extra virgem com microemulsões de betalaínas foram então submetidas a condições de oxidação acelerada, sendo expostas continuamente à luz e ao oxigênio por 24 dias. A Figura 20 apresenta a amostra controle, sem aplicação de microemulsões, no dia inicial e após 24 dias.

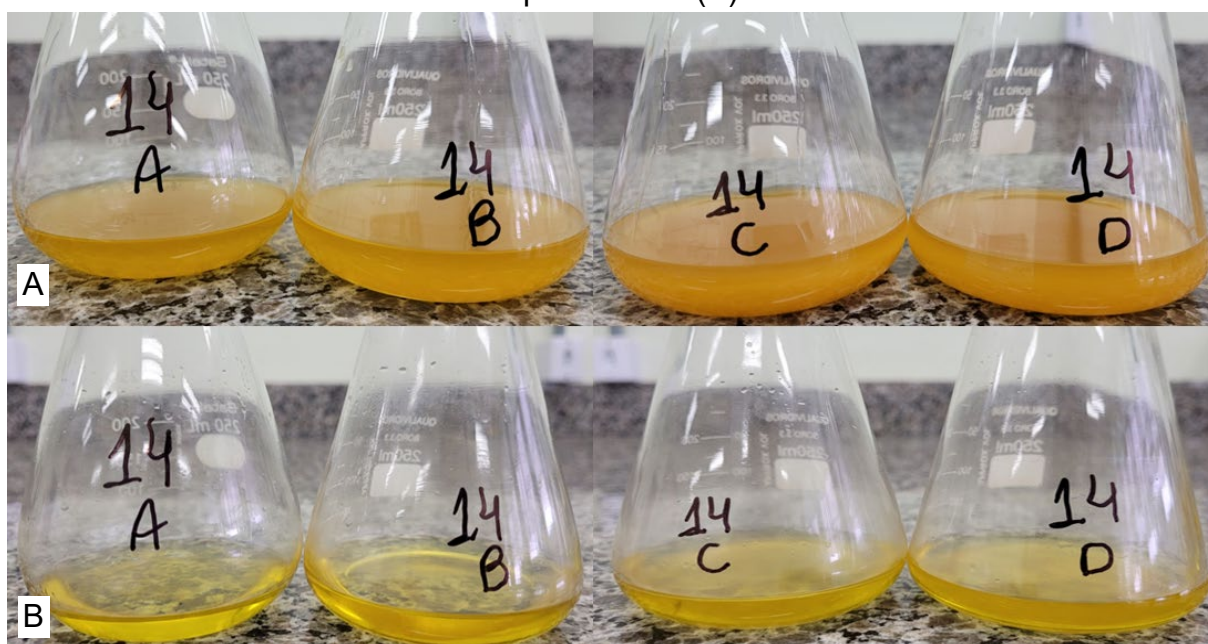
Figura 20 – Amostras de azeite sem aplicação de microemulsão (controle) no dia inicial (A) e após 24 dias (B).



Fonte: A autora.

As amostras controle exibiram uma leve mudança na cor após 24 dias de exposição à luz e oxigênio, demonstrando o efeito da oxidação. O azeite de oliva é rico em clorofilas, responsáveis por sua coloração levemente verde. Contudo, as clorofilas são componentes sensíveis e, à medida que o azeite oxida, elas se degradam, fazendo com que a cor do azeite mude de amarelo-esverdeado para amarelo-alaranjado (Borello, Roncucci e Domenici, 2021). A Figura 21 exibe as amostras de azeite de oliva com aplicação da microemulsão 14 no dia inicial e após 24 dias de exposição à luz e oxigênio.

Figura 21 – Amostras de azeite com aplicação da microemulsão 14 no dia inicial (A) e após 24 dias (B).



Fonte: A autora.

As amostras 14 apresentaram inicialmente uma coloração laranja escuro e eram visivelmente mais turvas em comparação ao controle. Após 24 dias, observou-se um clareamento e aumento da transparência significativo em ambas as concentrações. Na Figura 22 são apresentadas as amostras de azeite de oliva com aplicação da microemulsão 32 no dia inicial e após 24 dias de oxidação acelerada.

Figura 22 – Amostras de azeite com aplicação da microemulsão 32 no dia inicial (A) e após 24 dias (B).



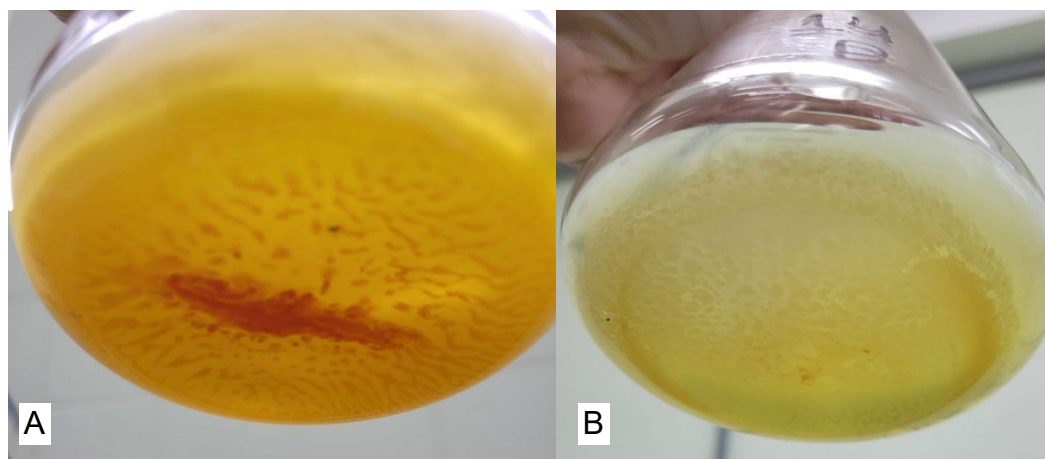
Fonte: A autora.

As amostras 32 eram mais escuras do que as amostras com microemulsão 14, mas apresentaram menor turvação. Após 24 dias, essas amostras também clarearam e se tornaram mais transparentes, assim como as amostras com microemulsão 14. O clareamento das amostras no final da análise pode ser explicado pela degradação das betalaínas gerada pela sua oxidação, o que diminui a intensidade da sua cor, assim como observado nas microemulsões. Já a diferença na turbidez ocorreu devido a cada microemulsão aplicada: a microemulsão 32, menos turva, quando aplicada ao azeite gerou menor turbidez do que a microemulsão 14, que possuía maior teor de betalaínas.

As amostras 14 apresentaram ainda separação de parte das betalaínas, que se depositaram ao fundo do recipiente, conforme é mostrado na Figura 23, para

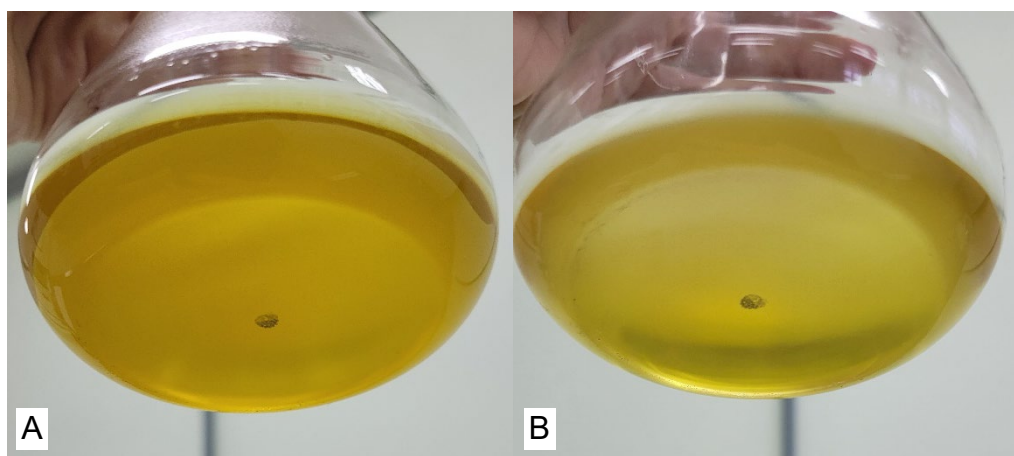
amostra 14 D no dia inicial e após 24 dias. Já as amostras 32 não tiveram separação de fases, como pode ser observado na Figura 24, demonstrando maior estabilidade das amostras de azeite de oliva extra virgem elaboradas com a microemulsão 32.

Figura 23 – Fundo do *Erlenmeyer* com a amostra 14 D no dia inicial (A) e após 24 dias (B).



Fonte: A autora.

Figura 24 – Fundo do *Erlenmeyer* com a amostra 32 D no dia inicial (A) e após 24 dias (B).



Fonte: A autora.

A análise colorimétrica das amostras de azeite de oliva extra virgem é apresentada na Tabela 13, para o dia inicial e após 24 dias de exposição à luz e oxigênio.

Tabela 13 – Análise colorimétrica das amostras de azeite de oliva extra virgem no dia inicial e após 24 dias.

Amostra	Cor L*		Cor a*		Cor b*	
	0	24	0	24	0	24
C	73,73 ± 1,52	76,57 ± 0,47	-10,06 ± 0,28	-8,11 ± 0,22	55,04 ± 2,54	42,93 ± 2,06
14 AB	67,32 ± 0,25	75,21 ± 0,10	-0,16 ± 0,03	-8,10 ± 0,00	49,54 ± 0,14	45,23 ± 0,52
14 CD	64,82 ± 2,04	74,54 ± 1,71	4,55 ± 2,67	-5,94 ± 1,41	46,34 ± 1,03	41,00 ± 0,30
32 AB	69,00 ± 1,92	72,17 ± 0,72	-5,27 ± 0,76	-5,98 ± 0,35	53,84 ± 0,85	46,04 ± 1,47
32 CD	65,69 ± 0,23	72,46 ± 0,29	-2,06 ± 0,18	-5,43 ± 0,62	50,48 ± 0,95	46,75 ± 0,41

Fonte: A autora.

Todas as amostras apresentaram aumento da coordenada L*, demonstrando um clareamento das amostras com o tempo, e redução da coordenada b*, indicando uma redução das cores amarelas e aumento dos tons de azul. Para as coordenadas a*, entretanto, houveram diferenças entre as amostras: o azeite de oliva extra virgem puro (controle), apresentou redução dos tons de verde e aumento dos tons de vermelho, e, portanto, comportando-se da maneira esperada na sua oxidação, devido a degradação da clorofila (Borello, Roncucci e Domenici, 2021). Já as amostras com aplicação de microemulsão de betalaínas, que possuíam valores de coordenada a* maiores inicialmente, apresentaram reduções nos tons vermelho com o passar do tempo, devido a degradação das betalaínas pela oxidação. Finalmente, é possível observar que as amostras que mais se aproximaram da coloração do controle foram as elaboradas com a microemulsão 14, especialmente a amostra 14 AB, que possui menor quantidade de microemulsão aplicada.

5.4.1 Teor de oxidação do azeite de oliva extra virgem

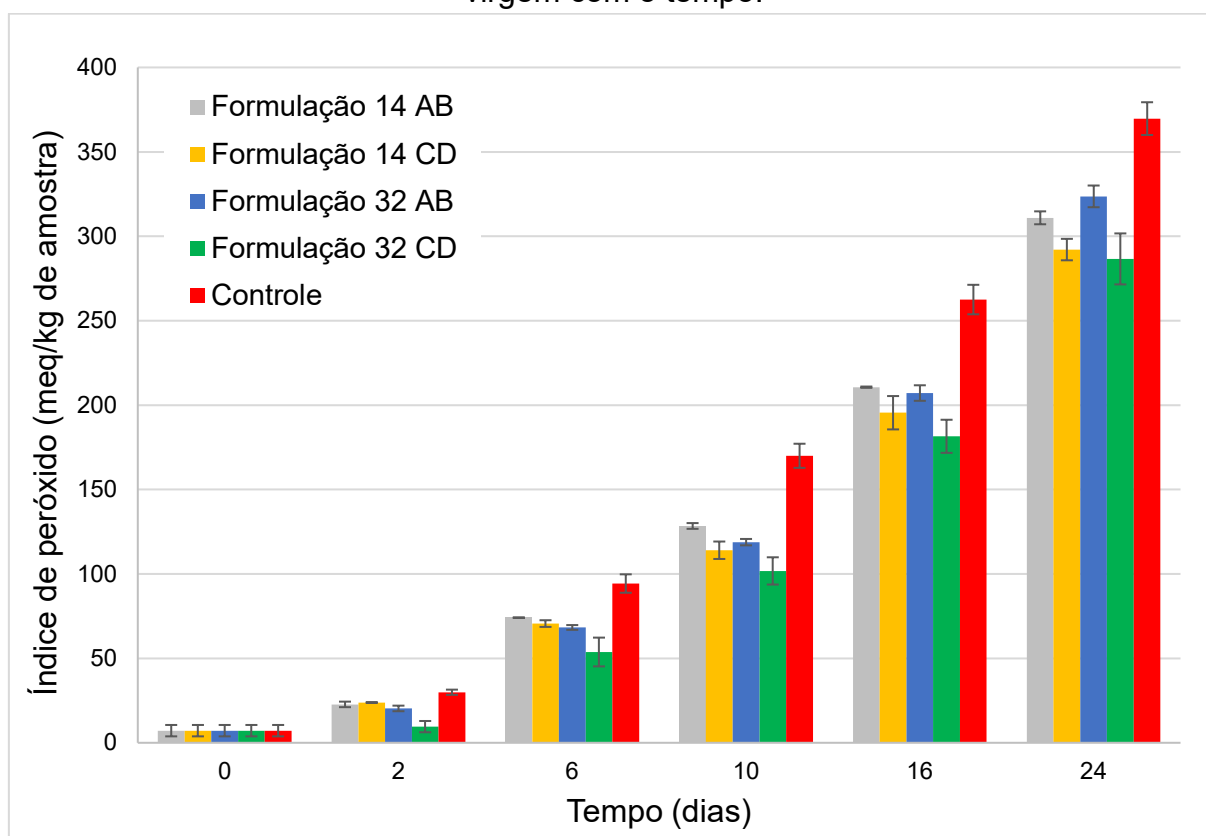
Os resultados da análise de índice de peróxidos das amostras de azeite de oliva extra virgem com aplicação de microemulsões de betalaínas submetidas a condição de oxidação acelerada são apresentados na Tabela 14 e no gráfico da Figura 25.

Tabela 14 – Índice de peróxidos nas amostras de azeite de oliva extra virgem com aplicação de microemulsões de betalaínas.

Amostra	Índice de peróxidos (mEq/kg)					
	Dia 0	Dia 2	Dia 6	Dia 10	Dia 16	Dia 24
C	7,18 ± 3,37	29,94 ± 1,54	94,32 ± 5,45	169,98 ± 7,14	262,52 ± 8,73	369,69 ± 9,70
14 AB (5%)	7,18 ± 3,37	22,74 ± 1,64	74,12 ± 0,11	128,42 ± 1,70	210,62 ± 0,38	310,94 ± 3,83
14 CD (10%)	7,18 ± 3,37	23,84 ± 0,15	70,61 ± 1,98	114,04 ± 5,17	195,49 ± 9,88	292,13 ± 6,36
32 AB (5%)	7,18 ± 3,37	20,35 ± 1,65	68,31 ± 1,42	118,83 ± 1,90	207,15 ± 4,60	323,64 ± 6,43
32 CD (10%)	7,18 ± 3,37	9,57 ± 3,34	53,77 ± 8,52	101,80 ± 8,07	181,53 ± 9,80	286,60 ± 15,10

Fonte: A autora.

Figura 25 – Variação do índice de peróxidos das amostras de azeite de oliva extra virgem com o tempo.



Fonte: A autora.

Todas as amostras de azeite de oliva extra virgem com microemulsões de betalaínas demonstraram menor oxidação comparado ao azeite puro. Entre as amostras testadas, a que apresentou o melhor potencial antioxidante foi a 32 CD. Especificamente, as amostras 32 CD e 14 CD, que continham uma maior quantidade

de microemulsões de betalaínas (10%), exibiram um potencial antioxidante superior às amostras 32 AB e 14 AB, que continham apenas 5% de microemulsão, especialmente a longo prazo.

De acordo com a Instrução Normativa nº 1, de 30 de janeiro de 2012, o azeite de oliva extra virgem deve apresentar um índice de peróxidos menor ou igual a 20 mEq/kg (BRASIL, 2012). Mesmo em condições de oxidação acelerada, sendo exposta a luz e ao oxigênio constantemente, a amostra 32 CD apresentou valores menores que este limite no segundo dia de medição, com $9,57 \pm 3,34$ mEq/kg, enquanto que o controle, azeite de oliva extra virgem puro, apresentou valores de $29,94 \pm 1,54$ mEq/kg, mais que o triplo de índice de peróxidos da amostra 32 CD. A partir da curva de oxidação gerada, estima-se que a amostra 32 CD manteve valores inferiores ao limite da legislação até o terceiro dia, demonstrando que, em condições adequadas de armazenamento, o azeite de oliva extra virgem adicionado de microemulsões de betalaínas poderá ter aumento significativo de sua vida útil, quando comparado a um azeite sem antioxidantes.

No dia 24 de exposição à luz e ao oxigênio, as amostras 32 AB e 32 CD apresentaram uma redução no seu potencial antioxidante, apresentando aumentos nos índices de peróxidos na mesma proporção do controle, possivelmente devido à menor quantidade de extrato de betalaínas utilizado na formulação de suas microemulsões.

As amostras 14 AB e 14 CD, que possuíam maior concentração de betalaínas em suas microemulsões, apresentaram menor poder antioxidante se comparadas as amostras elaboradas com a microemulsão 32, possivelmente devido à menor estabilidade das suas microemulsões, que tiveram menor incorporação do extrato no azeite, resultando em separação e deposição das betalaínas no fundo dos recipientes. A Tabela 15 apresenta a porcentagem da redução no índice de peróxidos das amostras com microemulsões em comparação ao controle (azeite de oliva extra virgem puro).

Tabela 15 – Porcentagem de redução no índice de peróxidos das amostras de azeite de oliva extra virgem com microemulsões de betalaínas em comparação ao controle.

Amostra	Redução no índice de peróxidos (%)				
	Dia 2	Dia 6	Dia 10	Dia 16	Dia 24
14 AB	24,046	21,421	24,448	19,771	15,893
14 CD	20,353	25,135	32,912	25,536	20,981
32 AB	32,035	27,580	30,091	21,094	12,458
32 CD	68,023	42,988	40,112	30,853	22,477

Fonte: A autora.

Observa-se que, no dia 2 de análise, todas as amostras apresentaram redução no índice de peróxidos de, no mínimo, 20% quando comparado ao controle, com a amostra 32 CD registrando uma redução de 68,023%. As amostras 32 AB e 32 CD apresentaram maior potencial antioxidante no início do processo de oxidação, reduzindo com o passar do tempo, enquanto que as amostras 14 AB e 14 CD atingiram a maior porcentagem de redução no índice de peróxidos apenas no dia 10, com redução do potencial antioxidante nos dias posteriores. Esse comportamento com maior disponibilidade do potencial antioxidante no início da oxidação torna as amostras elaboradas com a microemulsão 32 mais eficientes, por reduzir a oxidação já no seu início.

Attia, Moussa e Sheashea, (2013) observaram que, após 7 dias de análise de óleo de milho armazenado a 60 °C, os valores de índice de peróxidos foram de 17,40 mEq/kg para o óleo de milho sem antioxidantes. Para as amostras de óleo de milho com extratos de betalaína em concentrações de 200 ppm, 500 ppm e 1000 ppm, os valores de índice de peróxidos foram de 10,90 mEq/kg, 9,40 mEq/kg e 7,80 mEq/kg, respectivamente. A concentração de 1000 ppm demonstrou maior poder antioxidante do que o antioxidante sintético hidroxitolueno butilado (BHT), que apresentou um índice de peróxidos de 8,4 mEq/kg após 7 dias.

Lazăr et al. (2022) observaram uma redução na oxidação da maionese com a adição de extrato de beterraba em pó. O índice de peróxidos da maionese sem antioxidantes foi de 6,94 mEq/kg após 28 dias de armazenamento sob refrigeração, enquanto as amostras com concentrações de 1,5%, 3% e 5% de extrato de beterraba

em pó apresentaram índices de peróxidos de 4,17 mEq/kg, 3,83 mEq/kg e 2,62 mEq/kg, respectivamente.

Uglješa, Čorbo e Begić (2023) observaram um aumento no índice de peróxidos de azeite de oliva extra virgem puro de 3,75 mEq/kg no tempo 0 para 10,75 mEq/kg em 96 horas, em condições de temperatura elevada e ausência de luz. Amostras de azeite de oliva com antioxidantes sintéticos galato de propila (PG), hidroxianisol butilado (BHA) e BHT em concentrações de 0,01% apresentaram, respectivamente, valores de índice de peróxidos de 9,00 mEq/kg, 10,75 mEq/kg e 9,50 mEq/kg após 96 horas, compreendendo reduções de 11,6% a 16,3% no índice de peróxidos com a utilização de antioxidantes sintéticos.

6 CONCLUSÃO

O estudo realizado demonstrou o potencial antioxidante de microemulsões de betalaínas aplicadas em azeite de oliva extra virgem. A extração de betalaínas a partir de beterraba em pó, utilizando extração assistida por ultrassom, foi identificada como sendo o método mais eficiente em comparação à extração convencional, resultando em maiores conteúdos de betacianinas e betaxantinas. A quantificação do extrato de betalaínas permitiu a identificação do tempo ótimo de extração, de 40 minutos, bem como os fatores que influenciam de forma positiva na extração, como a razão sólido/líquido, e de forma negativa, como a concentração de etanol.

A caracterização das microemulsões demonstrou a estabilidade das amostras realizadas, através de análises de cor e de separação de fases. A análise de determinação de tamanho de partículas comprovou o tamanho micrométrico das emulsões, bem como a homogeneidade nas dimensões das partículas, dada pelo pequeno valor de *span*.

A estabilidade à oxidação do azeite de oliva extra virgem adicionado de microemulsões de betalaínas foi avaliada por meio da análise do índice de peróxidos, que indicou que todas as amostras de azeite de oliva extra virgem com microemulsões de betalaínas apresentaram redução significativa nos índices de peróxidos em comparação ao controle, com as amostras com maior concentração de microemulsões apresentando maior potencial antioxidante.

Com base nos resultados obtidos, conclui-se que as microemulsões de betalaínas extraídas de beterraba aplicadas em azeite de oliva extra virgem apresentaram um significativo potencial antioxidante, sendo uma alternativa natural aos antioxidantes sintéticos e proporcionando benefícios tanto para a conservação dos alimentos quanto para a saúde dos consumidores.

A partir dos resultados encontrados e visando o aprofundamento do tema trabalhado, apresenta-se as seguintes sugestões para trabalhos futuros: utilizar somente a casca da beterraba para a extração de betalaínas, realizar análises de acidez e pH das amostras de azeite de oliva extra virgem com a aplicação de microemulsões de betalaínas, conduzir uma análise sensorial do azeite de oliva extra virgem com aplicação dessas microemulsões, bem como empregar diferentes

tensoativos e óleos na elaboração das microemulsões para identificar a combinação que proporciona melhores características e estabilidade.

REFERÊNCIAS

AGNELO, R. Tecnologia dita a produtividade de beterraba. **Revista Campo e Negócios**, dez. 2021.

ANTONIO, J. P. *et al.* Ultrasound-Assisted Water-in-Oil Emulsions for the Microencapsulation of Beet Extract (*Beta Vulgaris* L.) by Spray Chilling Technique. **SSRN Electronic Journal**, 2021.

ATTIA, G. Y.; MOUSSA, M. M.; SHEASHEA, E. E. D. R. Characterization of red pigments extracted from red beet (*Beta Vulgaris*, L.) and its potential uses as antioxidant and natural food colorants. **Egyptian Journal of Agricultural Research**, v. 91, n. 3, p. 1095–1110, 1 set. 2013.

BARBU, V. *et al.* Three Types of Beetroot Products Enriched with Lactic Acid Bacteria. **Foods**, v. 9, n. 6, p. 786, 14 jun. 2020.

BENEITO-CAMBRA, M. *et al.* Direct analysis of olive oil and other vegetable oils by mass spectrometry: A review. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 132, p. 116046, nov. 2020.

BORELLO, E.; RONCUCCI, D.; DOMENICI, V. Study of the Evolution of Pigments from Freshly Pressed to ‘On-the-Shelf’ Extra-Virgin Olive Oils by Means of Near-UV Visible Spectroscopy. **Foods**, v. 10, n. 8, p. 1891, 15 ago. 2021.

BOSKOU, D.; BLEKAS, G.; TSIMIDOU, M. Olive Oil Composition. **Olive Oil: Chemistry and Technology: Second Edition**, p. 41–72, 1 jan. 2006.

BOUAZIZ, M. *et al.* Effect of storage on refined and husk olive oils composition: Stabilization by addition of natural antioxidants from Chemlali olive leaves. **Food Chemistry**, v. 108, n. 1, p. 253–262, maio 2008.

BRASIL. **Resolução RDC Nº 270, DE 22 de setembro de 2005**. Disponível em: <https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2005/rdc0270_22_09_2005.html>. Acesso em: 22 ago. 2023.

_____. **Instrução Normativa 1/2012**. Disponível em: <<https://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=visualizarAtoPortalMapa&chave=629707739>>. Acesso em: 26 ago. 2023.

BRASIL. **Instrução Normativa DC/ANVISA Nº 221 DE 17/04/2023**, 2023.

CALVA-ESTRADA, S. J.; JIMÉNEZ-FERNÁNDEZ, M.; LUGO-CERVANTES, E. Betalains and their applications in food: The current state of processing, stability and future opportunities in the industry. **Food Chemistry: Molecular Sciences**, v. 4, p. 100089, 30 jul. 2022.

- CAMPBELL-PLATT, G. **Ciência e tecnologia de alimentos**. Barueri: Manole, 2015.
- CAMPEOL. **Beterraba**. Disponível em: <<https://www.campeol.com.br/Produtos/9833/Beterraba>>. Acesso em: 24 jul. 2023.
- CASTRO-ENRÍQUEZ, D. D. *et al.* Stabilization of betalains by encapsulation—a review. **Journal of Food Science and Technology**, v. 57, n. 5, p. 1587, 1 maio 2020.
- CECCHI, L.; MIGLIORINI, M.; MULINACCI, N. Virgin Olive Oil Volatile Compounds: Composition, Sensory Characteristics, Analytical Approaches, Quality Control, and Authentication. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 69, n. 7, p. 2013–2040, 24 fev. 2021.
- CHEMAT, F. *et al.* Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. **Ultrasonics Sonochemistry**. Elsevier B.V., 1 jan. 2017.
- DALTIN, D. **Tensoativos: química, propriedades e aplicações**. São Paulo: Blucher, 2011.
- DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L. **Química de alimentos de Fennema**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2019.
- DELL'AGLI, M.; BOSISIO, E. Minor polar compounds of olive oil: Composition, factors of variability and bioactivity. *Em*: **Studies in Natural Products Chemistry**. p. 697–734, 2002.
- DÍAZ-MONTAÑA, E. J.; APARICIO-RUIZ, R.; MORALES, M. T. Effect of Flavorization on Virgin Olive Oil Oxidation and Volatile Profile. **Antioxidants**, v. 12, n. 2, p. 242, 21 jan. 2023.
- DOMINGUES, L. H. P. **Avaliação do potencial tecnológico de araçá-vermelho (*Psidium cattleianum* Sabine): estudos dos processos de extração sólido-líquido e clarificação por membranas**. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2019.
- EMBRAPA. **Beterraba - Portal Embrapa**. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/hortalica-nao-e-so-salada/beterraba#>>. Acesso em: 19 ago. 2023.
- FERNÁNDEZ DEL RÍO, L. *et al.* Olive Oil and the Hallmarks of Aging. **Molecules**, v. 21, n. 2, p. 163, 29 jan. 2016.
- FERNANDO, G. S. N. *et al.* Novel approach for purification of major betalains using flash chromatography and comparison of radical scavenging and antioxidant activities. **Food Chemistry**, v. 385, p. 132632, ago. 2022.

FERREIRA, L. P. C. *et al.* Estudo de Diferentes Metodologias para Quantificação de Betalaína de Beterraba. **Congresso Internacional de Atividade Física, Nutrição e Saúde**, v. 1, n. 1, 2017.

FDA. **CFR - Code of Federal Regulations Title 21**. EUA, 2023. Disponível em: <<https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?fr=73.40>>. Acesso em: 2 ago. 2023

FU, Y. *et al.* Red Beetroot Betalains: Perspectives on Extraction, Processing, and Potential Health Benefits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 68, n. 42, p. 11595–11611, 21 out. 2020.

GANDÍA-HERRERO, F. *et al.* Stabilization of the Bioactive Pigment of Opuntia Fruits through Maltodextrin Encapsulation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 19, p. 10646–10652, 13 out. 2010.

_____. Encapsulation of the Most Potent Antioxidant Betalains in Edible Matrixes as Powders of Different Colors. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, n. 18, p. 4294–4302, 8 maio 2013.

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

GOMES, D. A. DE A. **Aplicação de microemulsões na solubilização de frações pesadas de petróleo**. Natal: UFRN, 2009.

GONÇALVES, B. S. G. **Pigmentos Naturais de Origem Vegetal. Betalaínas**. Faro: Universidade do Algarve, 2018.

GRADZIELSKI, M. *et al.* Using Microemulsions: Formulation Based on Knowledge of Their Mesostructure. **Chemical Reviews**, v. 121, n. 10, p. 5671–5740, 26 maio 2021.

HADIPOUR, E. *et al.* Biological effects of red beetroot and betalains: A review. **Phytotherapy Research**, v. 34, n. 8, p. 1847–1867, 14 ago. 2020.

HIGUITA, D. M. C. **Avaliação de surfactantes de grau alimentício na formação de microemulsões W/O para posterior encapsulação de betalaina por coacervação complexa**. Tese (Doutorado em Engenharia e Ciência de Alimentos) - Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 2017.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção de Beterraba no Brasil | IBGE**. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/beterraba/br>>. Acesso em: 19 ago. 2023a.

_____. **Produção de Beterraba no Rio Grande do Sul | IBGE**. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/beterraba/rs>>. Acesso em: 19 ago. 2023b.

KHAN, M. I. Plant Betalains: Safety, Antioxidant Activity, Clinical Efficacy, and Bioavailability. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 15, n. 2, p. 316–330, 31 mar. 2016.

KOBLITZ, M. G. B. **Bioquímica de alimentos: teoria e aplicações práticas**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2019.

KUJALA, T. *et al.* Betalain and phenolic compositions of four beetroot (*Beta vulgaris*) cultivars. **European Food Research and Technology**, v. 214, n. 6, p. 505–510, 1 jun. 2002.

KUMAR, K.; SRIVASTAV, S.; SHARANAGAT, V. S. Ultrasound assisted extraction (UAE) of bioactive compounds from fruit and vegetable processing by-products: A review. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 70, p. 105325, jan. 2021.

LAJOLO, F. M.; MERCADANTE, A. Z. **Química e Bioquímica dos Alimentos**. Rio de Janeiro: Atheneu, 2017. v. 2

LAZĂR MISTRIANU, S. *et al.* Beetroot By-Product as a Functional Ingredient for Obtaining Value-Added Mayonnaise. **Processes**, v. 10, n. 2, p. 227, 25 jan. 2022.

LINARES, G.; ROJAS, M. L. Ultrasound-Assisted Extraction of Natural Pigments From Food Processing By-Products: A Review. **Frontiers in Nutrition**. Frontiers Media S.A., 24 maio 2022.

LOMBARDELLI, C. *et al.* Betalain Extracts from Beetroot as Food Colorants: Effect of Temperature and UV-Light on Storability. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 76, n. 3, p. 347–353, 5 set. 2021.

LOUZEIRO, H. C. **Microemulsões combustíveis a partir do óleo de babaçu para substituir o diesel em motores estacionários**. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2012.

LUM GMBH. **LUMISIZER®**. Disponível em: <<https://www.lum-gmbh.com/products/lumisizer-r.html>>. Acesso em: 13 jul. 2024.

MENG, X. *et al.* Rapid detection of adulteration of olive oil with soybean oil combined with chemometrics by Fourier transform infrared, visible-near-infrared and excitation-emission matrix fluorescence spectroscopy: A comparative study. **Food Chemistry**, v. 405, p. 134828, mar. 2023.

MOGHIMIPOUR, E. *et al.* Preparation and characterization of dexamethasone microemulsion based on pseudoternary phase diagram. **Jundishapur journal of natural pharmaceutical products**, v. 8, n. 3, p. 105–12, ago. 2013.

MOHAMMED, A. N.; ISHWARYA, S. P.; NISHA, P. Nanoemulsion Versus Microemulsion Systems for the Encapsulation of Beetroot Extract: Comparison of Physicochemical Characteristics and Betalain Stability. **Food and Bioprocess Technology**, v. 14, n. 1, p. 133–150, 6 jan. 2021.

NIRMAL, N. P.; MEREDDY, R.; MAQSOOD, S. Recent developments in emerging technologies for beetroot pigment extraction and its food applications. **Food Chemistry**, v. 356, p. 129611, set. 2021.

OLUMESE, F. E.; OBOH, H. A. Antioxidant and Antioxidant capacity of raw and processed Nigerian Beetroot (*Beta vulgaris*). **Nigerian Journal of Basic and Applied Sciences**, v. 24, n. 1, p. 35, 23 ago. 2016.

OMS. **Evaluation of certain food additives and contaminants**. Geneva: 1987.

PANDA, D.; MANICKAM, S. Cavitation Technology—The Future of Greener Extraction Method: A Review on the Extraction of Natural Products and Process Intensification Mechanism and Perspectives. **Applied Sciences**, v. 9, n. 4, p. 766, 22 fev. 2019.

PARRALEJO-SANZ, S. *et al.* Oil-Based Double Emulsion Microcarriers for Enhanced Stability and Bioaccessibility of Betalains and Phenolic Compounds from *Opuntia stricta* var. *dillenii* Green Extracts. **Foods**, v. 12, n. 11, p. 2243, 1 jun. 2023.

PAUL, B. K.; MOULIK, S. P. Microemulsions: an overview. **Journal of Dispersion Science and Technology**, v. 18, n. 4, p. 301–367, jun. 1997.

PELLE, F. DELLA *et al.* Antioxidant capacity index based on gold nanoparticles formation. Application to extra virgin olive oil samples. **Food Chemistry**, v. 178, p. 70–75, jul. 2015.

POULLI, K. I.; MOUSDIS, G. A.; GEORGIU, C. A. Monitoring olive oil oxidation under thermal and UV stress through synchronous fluorescence spectroscopy and classical assays. **Food Chemistry**, v. 117, n. 3, p. 499–503, dez. 2009.

RAIKOS, V. *et al.* Processed beetroot (*Beta vulgaris* L.) as a natural antioxidant in mayonnaise: Effects on physical stability, texture and sensory attributes. **Food Science and Human Wellness**, v. 5, n. 4, p. 191–198, dez. 2016.

RMOURA. **Ficha técnica - farinha de beterraba**. São Paulo, 2023.

RORIZ, C. L. *et al.* Modern extraction techniques optimized to extract betacyanins from *Gomphrena globosa* L. **Industrial Crops and Products**, v. 105, p. 29–40, out. 2017.

ROSEN, M. J. **Surfactants and Interfacial Phenomena**. [s.l.] Wiley, 2004.

_____. Characteristic Features of Surfactants. *Em*: **Surfactants and Interfacial Phenomena**. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc., 2012. p. 1–38.

SADOWSKA-BARTOSZ, I.; BARTOSZ, G. Biological Properties and Applications of Betalains. **Molecules (Basel, Switzerland)**, v. 26, n. 9, 26 abr. 2021.

SCHMIDTS, T. *et al.* Development of an alternative, time and cost saving method of creating pseudoternary diagrams using the example of a microemulsion. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 340, n. 1–3, p. 187–192, maio 2009.

ŠEREMET, D. *et al.* Red Beetroot and Banana Peels as Value-Added Ingredients: Assessment of Biological Activity and Preparation of Functional Edible Films. **Polymers**, v. 14, n. 21, p. 4724, 4 nov. 2022.

SILVA, J. D. F. DA *et al.* Microemulsions: components, characteristics, potentialities in food chemistry and other applications. **Química Nova**, 2015.

SILVA, V. L. DA. **Aplicação de sistemas microemulsionados como colchão lavador para remoção do reboco de fluido de perfuração não aquoso**. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2020.

SIVAKUMAR, V. *et al.* Ultrasound assisted enhancement in natural dye extraction from beetroot for industrial applications and natural dyeing of leather. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 16, n. 6, p. 782–789, 2009.

SLIMEN, I. B.; NAJAR, T.; ABDERRABBA, M. Chemical and Antioxidant Properties of Betalains. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 65, n. 4, p. 675–689, 1 fev. 2017.

SOUSA, C. R. V. DE. **Extração assistida por ultrassom e encapsulamento de corante da casca de beterraba com potencial para aplicação em iogurte**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2019.

STINTZING, F. C.; SCHIEBER, A.; CARLE, R. Evaluation of colour properties and chemical quality parameters of cactus juices. **European Food Research and Technology**, v. 216, n. 4, p. 303–311, 25 abr. 2003.

SUHAIL, N. *et al.* Microemulsions: Unique Properties, Pharmacological Applications, and Targeted Drug Delivery. **Frontiers in Nanotechnology**, v. 3, 12 nov. 2021.

TADINI, C. C. *et al.* **Operações unitárias na indústria de alimentos**. 1. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2018. v. 1

TARAPOULOUZI, M. *et al.* Recent Advances in Analytical Methods for the Detection of Olive Oil Oxidation Status during Storage along with Chemometrics, Authenticity and Fraud Studies. **Biomolecules**, v. 12, n. 9, p. 1180, 25 ago. 2022.

TARTARO, G. *et al.* Microemulsion Microstructure(s): A Tutorial Review. **Nanomaterials**, v. 10, n. 9, p. 1657, 24 ago. 2020.

TIVELLI, W. *et al.* **Beterraba: do plantio à comercialização**. (Série Tecnologia APTA. Boletim Técnico IAC, 210). Campinas: Instituto Agronômico, 2011.

TZIA, C.; LIADAKIS, G. **Extraction Optimization in Food Engineering**. New York: Marcel Dekker, 2003.

UGLJEŠA, S.; ČORBO, S.; BEGIĆ, M. The Effect of Antioxidants on the Quality and Stability of Olive Oil. *Em: 32nd Scientific-Expert Conference of Agriculture and Food Industry*. p. 242–255.

VICHI, S. *et al.* Solid-Phase Microextraction in the Analysis of Virgin Olive Oil Volatile Fraction: Modifications Induced by Oxidation and Suitable Markers of Oxidative Status. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 22, p. 6564–6571, 1 out. 2003.

VIOLA, P.; VIOLA, M. Virgin olive oil as a fundamental nutritional component and skin protector. **Clinics in Dermatology**, v. 27, n. 2, p. 159–165, mar. 2009.

VULIĆ, J. J. *et al.* In vivo and in vitro antioxidant effects of beetroot pomace extracts. **Journal of Functional Foods**, v. 6, p. 168–175, jan. 2014.

WOO, K. K. *et al.* Stability of Betalain Pigment from Red Dragon Fruit (*Hylocereus polyrhizus*). **American Journal of Food Technology**, v. 6, n. 2, p. 140–148, 15 jan. 2011.

ZHENG, S. *et al.* Progress in ultrasound-assisted extraction of the value-added products from microorganisms. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 37, n. 4, p. 71, 25 abr. 2021.

APÊNDICE A - FORMULAÇÕES UTILIZADAS NO DCCR DA EXTRAÇÃO.

Ensaio	X1	X2	X3	X4
1	-1	-1	-1	-1
2	-1	-1	-1	1
3	-1	-1	1	-1
4	-1	-1	1	1
5	-1	1	-1	-1
6	-1	1	-1	1
7	-1	1	1	-1
8	-1	1	1	1
9	1	-1	-1	-1
10	1	-1	-1	1
11	1	-1	1	-1
12	1	-1	1	1
13	1	1	-1	-1
14	1	1	-1	1
15	1	1	1	-1
16	1	1	1	1
17	-2	0	0	0
18	2	0	0	0
19	0	-2	0	0
20	0	2	0	0
21	0	0	-2	0
22	0	0	2	0
23	0	0	0	-2
24	0	0	0	2
25	0	0	0	0
26	0	0	0	0
27	0	0	0	0

**APÊNDICE B – FORMULAÇÕES UTILIZADAS NO DELINEAMENTO
EXPERIMENTAL DAS MICROEMULSÕES.**

Ensaio	Y1	Y2
1	-1	-1
2	1	-1
3	-1	1
4	-1,41	0
5	1,41	0
6	1	1
7	0	-1,41
8	0	1,41
9	0	0
10	0	0
11	0	0
12	-1,41	-1,41

ANEXO A – FICHA TÉCNICA DA BETERRABA EM PÓ



RMoura Comércio de Cereais Ltda.
www.rmouracereais.com.br
+55 11 33242100
qualidade@rmouracereais.com.br

FICHA TÉCNICA

Produto

Farinha de beterraba

DESCRIÇÃO

Como protagonista nessa mistura, a beterraba é um alimento riquíssimo em nutrientes, como carboidratos complexos, fibras, vitamina A potássio, ferro e cálcio. Mas, seu ponto forte está na quantidade de nitrato presente na raiz. Essa substância, ao entrar no nosso organismo, permite a formação do óxido nítrico, que promove a dilatação dos nossos vasos sanguíneos.

APLICAÇÃO

É utilizada para fazer pães, massas, biscoitos, bolos e tortas.

COMPOSIÇÃO

Beterraba. NÃO CONTEM GLÚTEN

PAÍS DE ORIGEM

Nacional

Peso líquido:

10 kg

INFORMAÇÕES NUTRICIONAIS

INFORMAÇÃO NUTRICIONAL		
Porção de 5g (1 colher de chá)		
Quantidade por porção	% VD (*)	
Valor energético	16 kcal = 68 kJ	1%
Carboidratos	11 g	1%
Proteínas	0,5 g	0%
Gordura totais	0 g	0%
Gordura saturada	0 g	0%
Fibra alimentar	0,4 g	2%
Sódio	30 mg	1%

(*) % Valores Diários de referência com base em uma dieta de 2.000 kcal ou 8400 kJ. Seus valores diários podem ser maiores ou menores dependendo de suas necessidades energéticas.

(**) VD não estabelecido

VALIDADE

12 meses da data de fabricação.

IDENTIFICAÇÃO

Em cada embalagem deverá conter as seguintes informações: nome do produto, data de fabricação, data de validade, lote e peso líquido.

EMBALAGEM

saco de Papel Polietileno.

TRANSPORTE

O produto deve ser transportado em veículo apropriado para transportar alimentos, abrigado de sol e chuva, limpos e secos, livres de insetos, larvas e mercadorias que possam vir a gerar contaminação ao produto.

ARMAZENAMENTO

Armazenar em local limpo, seco e arejado, distante de produtos químicos e livres de sujeiras, insetos, pombos ou outros animais. Armazenado em pallets e separado por data de fabricação.

ANÁLISES

Características Físicas a Químicas -Produtos de Vegetais (RDC nº272, DE 22 DE SETEMBRO DE 2005 - ANVISA)		
Umidade	Produtos de Vegetais secos ou desidratados (exceto produtos embalados a vácuo ou em atmosfera Codificada).	máxima 12 % (g/100 g)

Padrões microbiológicos (RDC Nº 12, DE 02 DE JANEIRO DE 2001- ANVISA)		
farinhas	Bacillus cereus/g	3x10 ³
	Coliformes a 45°C/g	10 ²
	Salmonella sp/25g	Ausente

Análise histológica
Avaliar se o produto é 100% puro, adição de outras farinhas.

Matérias estranhas macroscópicas e microscópicas (RDC Nº 14, DE 28 de março de 2014 - ANVISA)		
Alimentos em geral	Areia	1,5% de areia ou cinzas insolúveis em ácido
	Ácaros	Máximo de 5 na alíquota analisada de acordo com as recomendações das metodologias

“As informações obtidas acima são análises de empresas fabricantes, onde, não temos qualquer processo produtivo, apenas importação, armazenamento e distribuição.”
Solicitamos mantê-lo atualizado contatando a área de Qualidade da RMoura Cereais.