

AVALIAÇÃO DA CINÉTICA DE DEGRADAÇÃO TÉRMICA DE BETALAÍNAS EXTRAÍDAS DE *Beta vulgaris L.*

B. M. BASTOS¹, C. P. GRANDINI¹, S. K. C. RODRIGUES¹, M. A. dos SANTOS¹, T. J. LOPES¹ e F. S. ANTELO¹

¹ Universidade Federal do Rio Grande, Escola de Química e Alimentos
E-mail para contato: francine.antelo@furg.br

RESUMO – Como a cor é um importante atributo relacionado ao apelo visual e à qualidade de produtos alimentícios, a redução das perdas de pigmento durante o processamento dos alimentos é uma preocupação básica para a indústria. Nesse contexto, o conhecimento de modelos cinéticos de destruição térmica é essencial no desenvolvimento de novos processos que forneçam a máxima retenção dos fatores de qualidade. Somando a isso a atual tendência mundial em usar pigmentos naturais, estudou-se a cinética de degradação térmica de betalaínas (na forma de betaninas) extraídas por processo alcoólico de *Beta vulgaris L.* (beterraba) entre 50 e 80 °C, para pH 3,0. As constantes cinéticas de degradação (K_d) e os tempos de meia-vida ($t_{1/2}$) foram obtidos para 50, 60, 70 e 80°C. O modelo cinético foi assumido como de primeira ordem e os $t_{1/2}$ diminuíram à medida que a temperatura do tratamento foi aumentada, assim como o esperado. Através da equação de Arrhenius, a energia de ativação e o fator de frequência para as betaninas foram determinados como sendo de 20,72 kcal/gmol e 3,09 s⁻¹, nessa ordem.

1. INTRODUÇÃO

As preferências instintivas levam a prática do consumo de alimentos coloridos naturalmente além de que as alterações nos hábitos alimentares de consumo têm levado à evolução desses produtos alimentares (Reyes *et al.*, 2007; Volp *et al.*, 2009). Minimizar as perdas de pigmento durante o processamento é a preocupação primária para a indústria processadora – no processo industrial se faz necessário o monitoramento contínuo dessa troca de cor de forma a garantir a qualidade do produto (Shao-qian *et al.*, 2011).

A cinética de degradação da cor em alimentos é complexa. Modelos seguros que predizem corretamente o processo da reação química ocorrendo em líquidos homogêneos ou fases semi-sólidas durante os processos térmicos e armazenamento são proveitosos em muitas aplicações da engenharia incluindo processos de otimização. Portanto, estudos experimentais e aplicação de modelos para prever e interpretar parâmetros cinéticos como a ordem de reação, a taxa de reação e a energia de ativação são necessários (Ahmed *et al.*, 2002b). Além disso, modelos cinéticos de destruição térmica são essenciais para desenvolver novos processos, assumindo um produto alimentício seguro e fornecendo a máxima retenção dos fatores de qualidade (Ávila e Silva, 1999). Steet & Tong (1996), Weemaes *et al.* (1999), Guunawan e Barringer (2000), Ahmed *et al.* (2002 a, b), Antelo *et al.*, 2008 e Patras *et al.* (2010) tem considerado a cinética de degradação da cor como seguindo uma reação de primeira ordem.

Frente à atual tendência mundial em usar pigmentos naturais como corantes para alimentos, ênfase tem sido dada à busca de fontes economicamente viáveis (Lima *et al.*, 2005). Neste contexto, destacam-se as betalaínas, pigmentos naturais responsáveis pela coloração da beterraba vermelha e incluem duas

classes de pigmentos: as betacianinas vermelhas e as betaxantinas amarelas (Castellar *et al.*, 2003). As betacianinas compreendem 80-90% das betalaínas da beterraba vermelha e são encontradas na forma de betaninas, visíveis à 538 e 600 nm.

O fato de a beterraba vermelha ter uma alta capacidade de cultivo e baixo custo de processamento em relação aos demais corantes naturais somado à ausência de toxicidade aguda e atividade mutagênica nos seus pigmentos e à atividade antioxidante reconhecida, justifica a sua utilização em pesquisas (Von Elbe e Schwartz, 1981; Schwartz *et al.*; 1983; Conforti-Froes *et al.*, 1992; Drunkler *et al.*, 2003; Strack *et al.*, 2003). No entanto, seu uso em alimentos é limitado devido à baixa estabilidade da cor, que é dependente de fatores como pH, temperatura, presença ou ausência de oxigênio e de luz, atividade de água, entre outros.

A pesquisa sobre técnicas de estabilização de corantes naturais é de grande relevância, pois busca melhorar sua estabilidade ampliando seu uso e, conseqüentemente, diminuindo seu custo (Gradinaru *et al.*, 2003). Dessa forma, as perspectivas do uso de betalaínas, sobretudo nas indústrias alimentícia e farmacêutica, ilustram a importância dos estudos que objetivam estudar a cinética de degradação térmica de cada uma. Nesse contexto, esse trabalho tem como objetivos determinar as constantes cinéticas de degradação (K_d) para as temperaturas de 50, 60, 70 e 80°C, para os extratos de betalaína oriundos de *Beta vulgaris L.*, para pH 3,0 assim como o tempo de meia-vida ($t_{1/2}$) para cada temperatura analisada. Através da equação de Arrhenius, ainda serão determinadas a energia de ativação (E_a) e o fator de frequência (A) da reação de degradação da cor do mesmo extrato.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Extração de Betalaínas de *Beta vulgaris L.*

As amostras de *Beta vulgaris L.*, foram coletadas na cidade de Santo Antônio da Patrulha - RS e extraídas de acordo com Ramos *et al.* (2000). Aproximadamente 50 g de beterraba *in natura*, foram descascadas e cortadas para então adicionar-se 100 mL de etanol 99,5% como solvente extrator. Devido à beterraba ser uma fonte rica de nutrientes e passíveis de contaminação microbiana, o uso de solventes aquosos poderia impossibilitar o estudo da estabilidade da cor. O tempo de extração foi de 48 h em béquer envolvido em papel alumínio, sem agitação e na temperatura ambiente. A solução foi filtrada e o filtrado levado à evaporação em rota evaporador à temperatura de 49°C, até a obtenção de volume constante. Aguardou-se que a solução esfriasse, corrigiu-se o pH para 3,0 utilizando HCl concentrado para então armazená-la posteriormente em frasco escuro, em congelador a -18°C. A extração foi realizada em uma única batelada de forma a assegurar que o mesmo extrato fosse utilizado em todos os ensaios de degradação térmica, garantindo as mesmas características iniciais.

2.2. Determinação da Cinética de Degradação de Betalaínas

Os estudos da cinética da degradação térmica dos extratos de betalaína foram conduzidos em tubos de ensaio com tampa de rosca, à temperatura constante de estudo, contendo 0,5 mL de extrato. Foram estudados os comportamentos às temperaturas de 50, 60, 70 e 80°C.

As amostras foram colocadas nos banhos termostatizados na temperatura de estudo respectiva, sendo retiradas periodicamente até que se atinja a metade da concentração inicial das betalaínas, como procedeu Antelo *et al.* (2008) na análise da cinética de degradação de ficocianinas de *Spirulina*

platensis. Esse monitoramento da degradação será determinado através de leitura espectrofotométrica a 470, 528 e 538 nm.

2.3. Concentração de Betalaínas

A quantificação de betalaínas na forma de betaninas foi determinada de acordo com Nilsson (1970) e os resultados expressos em mg/100 g de beterraba, como mostra a Equação 1:

$$BT = \frac{(Abs_{538} - Abs_{600}) * fd}{1023} \quad (1)$$

onde Abs_{538} e Abs_{600} são as absorbâncias da amostra a 538 e 600 nm, respectivamente e fd é o fator de diluição. As análises foram feitas em triplicata.

2.4. Constante Cinética de Degradação

As constantes cinéticas de degradação das betalaínas na forma de betaninas (Kd) foram estimadas através da regressão dos dados experimentais tempo, concentração ao longo do tempo e concentração inicial, para cada temperatura estudada, de acordo com Fogler (1999), segundo a Equação 2.

$$\frac{dC_B}{dt} = -Kd \times C_B \quad (2)$$

onde C_B é a concentração de betalaínas em mg/100 g de beterraba, t é o tempo em s e Kd é a constante cinética de degradação em s^{-1} .

2.5. Tempo de Meia-vida

O tempo de meia-vida ($t_{1/2}$) é o tempo necessário para que a concentração do composto considerado seja reduzida à metade do seu valor inicial e é dado pela relação estabelecida por Hill (1977). O tempo de meia-vida foi determinado para cada temperatura estudada, segundo a Equação 3:

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{Kd} \quad (3)$$

onde Kd é a constante cinética de degradação em s^{-1} .

2.6. Equação de Arrhenius

A equação de Arrhenius, que relaciona a temperatura e a constante de velocidade para reações elementares, permitiu que fossem determinadas a energia de ativação e o fator de frequência da reação de degradação, de acordo com Smith (1970), conforme a Equação 4:

$$Kd = A \times e^{\frac{-Ed}{R \times T}} \quad (4)$$

onde Kd é a constante cinética de degradação em s^{-1} , A é o fator de frequência em s^{-1} , E_d é a energia de ativação da reação de degradação em $kcal.mol^{-1}$, T é a temperatura em K e R é a constante dos gases em $kcal.mol^{-1}.K^{-1}$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Amostras de extratos de betalaínas, extraída em pH 3,0, foram submetidas às temperaturas de 50, 60, 70 e 80°C, de modo a se obter as constantes cinéticas de degradação (Kd) assim como o tempo de meia-vida ($t_{1/2}$) para cada composto analisado. Dado que as betalaínas são mais estáveis em pH ácido, trabalhou-se inicialmente com pH 3,0.

Segundo Drdàk *et al.* (1990) e Pátkai e Barta (1996), a degradação térmica das betalaínas, segue uma reação cinética de primeira ordem. Ainda, Àvila e Silva (1999) comentam que numerosas pesquisas estudaram a aplicação do modelo de primeira ordem para descrever a degradação da cor em produtos alimentícios. Levando em consideração essas afirmativas e, integrando-se a Equação 2, tem-se a Equação 6:

$$\ln \frac{C_B}{C_{BO}} = -Kd \times t \quad (5)$$

Graficando $\ln(C_B/C_{BO})$ em função do tempo e para 60°C e analisando a Figura 1, pode-se confirmar que a degradação térmica das betalaínas na forma de betaninas segue uma cinética de primeira ordem no momento em que a curva de tendência apresentou-se de forma linear. Assim, foi possível determinar o valor das constantes cinéticas de desnaturação (Kd) para o extrato de betalaínas na forma de betaninas para cada uma das temperaturas estudadas e ainda o tempo de meia-vida ($t_{1/2}$) nas mesmas circunstâncias. A Tabela 1 apresenta os valores das constantes cinéticas de degradação e do tempo de meia vida para o extrato a pH 3,0, para as temperaturas de 50, 60, 70 e 80°C.

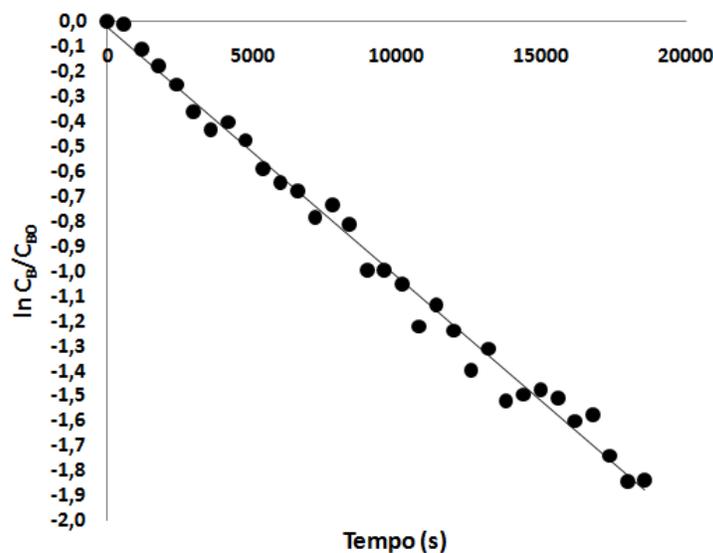


Figura 1 – Degradação das betalaínas na forma de betaninas de *Beta vulgaris* L., pH 3,0, a 60°C. Cada ponto representa a média das triplicatas, como erro inferior a 5%.

Tabela 1 – Valores das constantes de degradação térmica (K_d) e do tempo de meia-vida ($t_{1/2}$) para as betaninas de *Beta vulgaris* L. para cada temperatura estudada.

T (K)	$1/T \cdot 10^{-3}$ (K ⁻¹)	K_d (s ⁻¹)	Coefficiente de correlação	$t_{1/2}$ (min)
323	3,09	$3 \cdot 10^{-5} \pm 0,000005$	0,98	$385,1 \pm 5,8$
333	3,00	$1 \cdot 10^{-4} \pm 0,00002$	0,99	$115,52 \pm 2$
343	2,91	$2 \cdot 10^{-4} \pm 0,00005$	0,99	$57,8 \pm 3,1$
353	2,83	$5 \cdot 10^{-4} \pm 0,00003$	0,97	$23,1 \pm 1,5$

De acordo com os resultados obtidos, pode-se constatar que as betaninas degradaram-se mais rapidamente às temperaturas mais altas, já que o tempo de meia-vida, ou seja, tempo em que a concentração inicial reduziu-se a metade, diminuiu ao passo que a temperatura de trabalho foi aumentada. O mesmo foi observado por Fernández-López *et al.* (2013) para as betaninas de figo-da-índia (*Opuntia stricta*).

Assim como identificado por Fernández-López *et al.* (2013) nos estudo da estabilidade térmica de betaninas de betarraba e figo-da-índia entre 50 e 90°C, os valores de K_d aumentaram à medida que a temperatura de estudo igualmente aumentou. Então, como esperado, a degradação foi dependente da temperatura, ocorrendo de forma mais rápida para 80°C do que para 50°C, limites da faixa estudada.

Essa dependência da degradação das betalaínas com a temperatura e conseqüentemente com a perda de cor, foi comprovada correlacionando-se o inverso das temperaturas com o logaritmo das constantes cinéticas de degradação térmica para cada uma delas, conforme mostra a Figura 2.

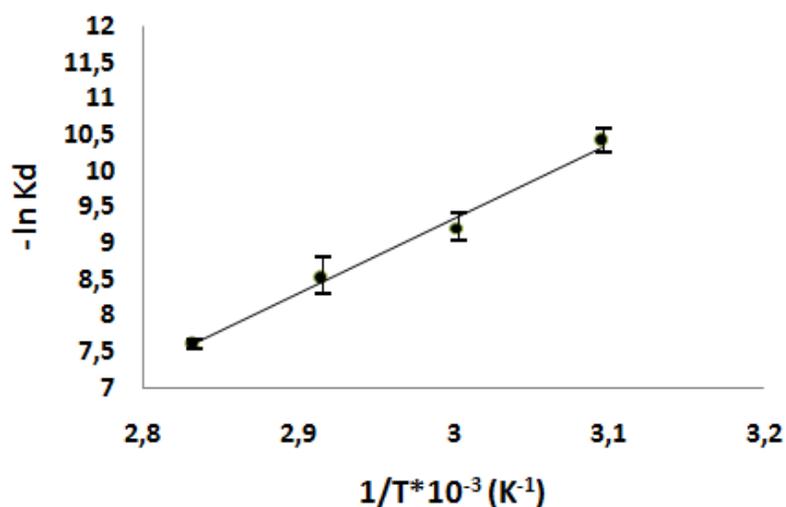


Figura 2 – Dados experimentais das constantes de degradação térmica (K_d) em função da temperatura para o cálculo da energia de ativação da reação de degradação (E_d) das betaninas de *Beta vulgaris* L. através da equação de Arrhenius.

Linearizando-se a Equação 4, tem-se a Equação 6, que permitiu determinar a energia de ativação (E_d) e o fator de frequência (A) para as betaninas, como mostra a Tabela 2. A energia de ativação é considerada a mínima energia que devem possuir as moléculas reagentes antes da reação ocorrer e, o

fator ($e^{-E_d/R \times T}$) fornece a fração de colisões entre as moléculas que juntas possuem a mínima energia (Fogler, 1999).

$$\ln K_d = \ln A - \frac{E_d}{R \times T} \quad (6)$$

Tabela 2 – Valores das energias de ativação da reação de degradação (E_d) e dos fatores de frequência (A) para as betaninas de *Beta vulgaris* L.

E_d (kcal/mol)	A (s^{-1})
20,72	3,09

Saguy *et al* (1978) obtiveram constantes de degradação de $8,16 \times 10^{-5} s^{-1}$ a $60^\circ C$ e $5 \times 10^{-4} s^{-1}$ a $81^\circ C$ para o extrato de betanina a pH 5,5, valores estes da mesma ordem de grandeza dos obtidos nesse estudo para 60 e $80^\circ C$. Para $81^\circ C$, o tempo de meia-vida foi o mesmo obtido pelos autores enquanto que para $60^\circ C$ obtivemos um tempo de meia-vida cerca de duas vezes superior ao obtido para o extrato a pH 5,5. A energia de ativação também concordou com a determinada pelos mesmos autores para o extrato de betanina a pH 5,5, entre 60 e $86^\circ C$ e, dessa forma, os resultados obtidos concordam com os disponíveis na literatura para condições semelhantes às propostas nesse estudo.

4. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos indicam que os tratamentos térmicos a altas temperaturas afetam o processo de degradação das betalaínas na forma de betaninas, oriundas de frutas e vegetais, que servem como base de produtos alimentares. A degradação das betaninas extraídas da beterraba (*Beta vulgaris* L.) seguiu uma cinética de reação de primeira ordem, como esperado, enquanto que os tempos de meia-vida aumentaram ao passo que a temperatura foi aumentando no intervalo entre 50 e $80^\circ C$. O mesmo aconteceu com as constantes de degradação térmica, cujos valores foram mais altos para as maiores temperaturas estudadas. Ainda, a variação das constantes de degradação com a temperatura obedeceu à relação estabelecida pela relação de Arrhenius. Isso evidencia a dependência do processo degradativo, e da conseqüente perda da cor, com a temperatura.

5. REFERÊNCIAS

- AHMED, J.; KAUR, A.; SHIVHARE, U. S. Color degradation kinetics of spinach, mustard leaves and mixed puree. *J. Food Sci.*, v. 67, p. 1088-1091, 2002a.
- AHMED, J.; SHIVHARE, U. S.; SANDHU, S. Thermal degradation kinetics of carotenoids and visual color of papaya puree. *J. Food Sci.*, v. 67, p. 2692–2695, 2002b.
- ANTELO, F. S.; COSTA, J. A. V.; KALIL, S. J. Thermal degradation kinetics of the phycocyanin from *Spirulina platensis*. *Biochem. Eng. J.*, v. 41, p. 43-47, 2008.
- ÁVILA, I. M. L. B.; SILVA, C. L. M. Modelling kinetics of thermal degradation of colour in peach puree. *J. Food Eng.*, v. 39, p. 161-166, 1999.
- CASTELLAR, R.; ÓBON, J. M.; ALACID, M.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J. A. Color properties and stability of betacyanins from opuntia fruits. *J. Agr. Food Chem.*, v. 51, p. 2772-2776, 2003.
- CONFORTI-FROES, N.; VARELLA-GARCIA, M.; SILVA, A. A. Utilização do corante da beterraba como aditivo alimentar. *Alim. Nutr.*, v. 4, p. 33-44, 1992.

- DRDÁK, M.; VALLOVÁ, M.; GREIF, G.; SIMKO, P.; KUSÝ, P. Influence of water activity on the stability of betanine. *Z. Lebensm. Unters. For.*, v. 190, p. 121-122, 1990.
- DRUNKLER, D. A.; FETT, R.; LUIZ, M. T. B. Betalaínas extraídas da beterraba vermelha (*Beta vulgaris* L.). Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 37, p. 14-21, 2003.
- FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J. A.; ANGOSTO, J. M.; GIMÉNEZ, P. J.; LEÓN, G. Thermal stability of selected natural red extracts used as food colorants. *Plant Foods Hum. Nutr.*, v. 68, p. 11-17, 2013.
- FOGLER, H. S. *Elements of chemical reaction engineering*. New York: Prentice Hall, 1999.
- FULEKI, T.; FRANCIS, F. J. Quantitative methods for anthocyanins. 1. Extraction and determination of total anthocyanins in cranberries. *J. Food Sci.*, v. 33, p. 72-77, 1968.
- GRADINARU, G.; BILIADERIS, C. G.; KALLITHRAKA, S.; KEFALAS, P.; GARCIA-VIGUERA, C. Thermal stability of Hibiscus sabdariffa L. anthocyanins in solution and in solid state: effects of copigmentation and glass transition. *Food Chem.*, v. 83, p. 423-436, 2003.
- GUNAWAN, M. I.; BARRINGER, S. A. Green color degradation of blanched broccoli (*Brassica oleracea*) due to acid and microbial growth. *J. Food Process. Pres.*, v. 24, p. 253-263, 2000.
- HILL, C. G. *An introduction to chemical engineering kinetics & reactor design*. Madison: John Wiley & Sons, 1977.
- LIMA, V. L. A. G.; MÉLO, E. A.; LIMA, D. E. da S., Efeito da luz e da temperatura de congelamento sobre a estabilidade das antocianinas da pitanga roxa. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, v. 25, p. 92-94, 2005.
- NILSSON, T. Studies into the pigments in beetroot (*Beta vulgaris* L. ssp. *Vulgaris* var. *rubra* L.). *Lantbrukshogskölans Ann.*, v. 36, p. 179-219, 1970.
- PÁTKAI, G.; BARTA, J. Decomposition of betacyanins and betaxanthins by heat and pH changes. *Mol. Nutr. Food Res.*, v. 40, p. 267-270, 1996.
- PATRAS, A.; BRUNTON, N. P.; O'DONNELL, C.; TIWARI, B. K. Effect of thermal processing on anthocyanin stability in foods; mechanisms and kinetics of degradation. *Trends Food Sci. Tech.*, v. 21, p. 3-11, 2010.
- RAMOS, L. A.; LUPETTI, K. O.; CAVALHEIRO, E. T. G.; FATIBELLO-FILHO, O. Utilização do Extrato Bruto de Frutos de *Solanum Nigrum* L. no Ensino de Química. *Eclét. Quim.*, v. 25, p. 229-240, 2000.
- REYES, L. F.; CISNEROS-ZEVALLOS, L. Degradation kinetics and colour of anthocyanins in aqueous extracts of purple- and red-flesh potatoes (*Solanum tuberosum* L.). *Food Chem.*, v. 100, p. 885-894, 2007.
- SAGUY, I. Thermostability of red beet pigments (betanine and vulgoxanthin-I): influence of pH and temperature. *J. Food Sci.*, v. 44, p. 1554-1555, 1979.
- SCHWARTZ, S. J.; VON ELBE, J. H.; PARIZA, M.W.; GOLDSWORTHY, T.; PILOT, H. C. Inability of red beet betalain pigments to initiate or promote hepatocarcinogenesis. *Food Chem. Toxicol.*, v.21, p. 531-535, 1983.
- SHAO-QIAN, C.; LIANG, L.; SI-YI, P. Thermal degradation kinetics of anthocyanins and visual color of blood orange juice. *Agri. Sci. China*, v. 10, p. 1992-1997, 2011.
- SMITH, J. M. *Chemical engineering kinetics*. 2ª edição. Califórnia: McGraw-Hill LTDA., 1970.
- STEET, J. A.; TONG, C. H. Degradation kinetics of green color and chlorophyll in peas by colorimetry and HPLC. *J. Food Sci.*, v. 61, p. 924-927, 1996.
- STRACK, D.; VOGT, T.; SCHLIEMANN, W. Recent advances in betalain research. *Phytochemistry*, v. 62, p. 247-269, 2003.

- VOLP, A. C. P.; RENHE, I. R. T.; STRINGUETA, P. C. Pigmentos naturais bioativos. *Alim. Nutr.*, v. 20, p. 157-166, 2009.
- VON ELBE, J. H.; SCHWARTZ, S. J. Absence of mutagenic activity and a short-term toxicity study of beet pigments as food colorants. *Arch. Toxicol.*, v. 49, p. 93-98, 1981.
- WEEMAES, C. A.; OOMS, V.; LOEY, A. M.; HENDRICKX, M. E. Kinetics of chlorophyll degradation and color loss in heated broccoli juice. *J. Agr. Food Chem.*, v. 44, p. 2404-2409, 1999.