

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DIRETORIA DE GRADUAÇÃO E EDUCAÇÃO PROFISSIONAL
COORDENAÇÃO DO CURSO DE TECNOLOGIA EM PROCESSOS QUÍMICOS

BÁRBARA MIRANDA KOPP

**EFEITO DOS MÉTODOS DE SECAGEM E EXTRAÇÃO SOBRE A
ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DA BETERRABA**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

TOLEDO
2019

BÁRBARA MIRANDA KOPP

**EFEITO DOS MÉTODOS DE SECAGEM E EXTRAÇÃO SOBRE A
ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DA BETERRABA**

Trabalho de conclusão de Curso apresentado a Coordenação do Curso Superior de Tecnologia em Processos Químicos – COPEQ – da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR *Campus* Toledo, como requisito parcial para obtenção do título de Tecnólogo em Processos Químicos.

Orientadora: Dra Solange Maria Cottica

TOLEDO
2019

**TERMO DE APROVAÇÃO
DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO 2**

BÁRBARA MIRANDA KOPP

**EFEITO DOS MÉTODOS DE SECAGEM E EXTRAÇÃO SOBRE A
ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DA BETERRABA**

Trabalho apresentado como forma de avaliação para o Trabalho de Conclusão de Curso 2 do curso de Tecnologia em Processos Químicos da UTFPR, *Campus* Toledo, e aprovado pela banca examinadora abaixo.

Profª Drª Solange Maria Cottica

Prof Dr Ricardo Fiori Zara

Profª Drª Jacqueline Ferandin Honorio

Toledo, Dezembro de 2019

Resumo

A beterraba é uma raiz tuberosa de cor vermelho-arroxeadada em virtude da presença de betalaínas, as quais são ótimos antioxidantes. O objetivo do trabalho foi avaliar os métodos de secagem (liofilização e secagem em forno) e de extração (refluxo e ultrassom) sobre a bioatividade da beterraba. Utilizaram-se os métodos DPPH e ABTS para determinar a atividade antioxidante e o teor de flavonoides e compostos fenólicos totais para determinar os compostos bioativos. Além disso, o teor de minerais, umidade, cinzas, proteínas, lipídios e fibras da beterraba também foram determinados. A extração realizada com auxílio de ultrassom resultou em melhores valores de atividade antioxidante e compostos bioativos. O mesmo comportamento foi observado para as amostras secas em liofilizador.

Palavras-chave: Compostos bioativos, ultrassom, refluxo, liofilização, secagem por aquecimento, suplementação.

Abstract

The beet is a purplish red tuberous root due to the presence of betalains, which are great antioxidants. The aim of this work was to evaluate drying methods (freeze and oven drying) and extraction methods (reflux and ultrasound) regarding to the beet bioactivity. DPPH and ABTS methods were used to determine antioxidant activity and the content of flavonoids and total phenolic compounds to determine bioactive compounds. In addition, the content of beet minerals, moisture, ashes, proteins, lipids and fibers were also determined. Extraction performed with the aid of ultrasound resulted in better values of antioxidant activity and bioactive compounds. The same behavior was observed for freeze-dried samples.

Keywords: Bioactive compounds, ultrasound, reflux, freeze-drying, heat drying, supplementation.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABTS - ácido 2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico

DPPH - 1,1-difenil-2-picrilhidrazila

ET – Equivalente Trolox

FLA – Flavonoides

TPC – Compostos fenólicos totais

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1 - Derivação da espécie <i>Beta vulgaris</i> | 14 |
| Figura 2 - Estrutura química das betacianinas e betaxantinas | 16 |
| Figura 3 - Beterrabas cortadas, pré-secagem | 18 |
| Figura 4 - Estrutura DPPH | 20 |
| Figura 5 - Reação do ABTS | 21 |
| Figura 6 - Composição centesimal da beterraba (g/100g) | 29 |
| Figura 7 – Redução de umidade da beterraba | 30 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1: Minerais na amostra da beterraba..... | 31 |
| Tabela 2: Teor de compostos fenólicos e flavonoides..... | 31 |
| Tabela 3: Atividade antioxidante | 32 |

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| 1. INTRODUÇÃO | 10 |
| 2. OBJETIVO | 11 |
| 2.1 Objetivo geral | 11 |
| 2.2 Objetivo específicos | 11 |
| 3. JUSTIFICATIVA | 12 |
| 4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 13 |
| 4.1 Alimentação equina | 13 |
| 4.2 Beterraba | 14 |
| 4.3 Métodos de secagem de alimentos | 17 |
| 4.4 Antioxidantes e métodos de extração | 18 |
| 4.5 Antioxidantes e métodos de determinação | 20 |
| 5. MATERIAL E MÉTODOS | 22 |
| 5.1. Coleta e secagem das amostras | 22 |
| 5.2. Extração das amostras secas | 22 |
| 5.3. Composição centesimal | 22 |
| 5.3.1. Perda por dessecação (umidade) | 22 |
| 5.3.2. Resíduo por incineração - cinzas | 23 |
| 5.3.3. Lipídios totais pelo método de Bligh-Dyer..... | 23 |
| 5.3.4. Proteína total – método de Kjeldahl clássico..... | 24 |
| 5.3.5. Fibra bruta | 24 |
| 5.4. Determinação de minerais | 25 |
| 5.5. Atividade antioxidante total para captura do radical livre (ABTS) | 25 |
| 5.6. Capacidade de captura do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH) | 26 |
| 5.7. Compostos fenólicos totais (TPC) | 27 |
| 5.8. Teor de flavonoides (FLA) | 27 |
| 5.9. Análise estatística | 28 |
| 6. RESULTADOS E DISCUSSÃO | 29 |
| 7. CONCLUSÃO | 34 |
| REFERÊNCIAS | 35 |

1. INTRODUÇÃO

O Brasil possui o maior rebanho de equinos da América Latina, sendo o 3º maior do mundo, segundo Almeida e Silva (2010). A indústria equina tem um papel importante na economia do Brasil, pois engloba fornecedores de insumos, medicamentos e acessórios. A beterraba é muito estudada para alimentação equina por ter valiosas propriedades medicinais decorrente do seu elevado conteúdo de sais minerais, vitaminas e carboidratos. Com isso, ela fortalece os tendões dos animais e possui ação anti-inflamatória (BRANDI & FURTADO, 2009).

Já existe uma ração equina no mercado que é a primeira ração no Brasil que contém alta concentração de polpa de beterraba (A GuabiTech Beet) (16%). A beterraba pode melhorar a eficiência da flora intestinal, resultando em menor acúmulo de ácido lático pós exercícios, além de conter alto teor de betacaroteno, um precursor da vitamina A, que entra com ação antioxidante no organismo e aumenta a resposta imune, tornando o animal mais resistente (BEET, 2019).

A beterraba também possui as vitaminas A, C e flavonoides como antioxidantes. Para Amorim (2011), os antioxidantes presentes podem proteger o músculo de traumas do exercício físico ao impedir o rompimento das membranas celulares neutralizando os radicais livres e com isso diminuindo as dores musculares.

Segundo Elias (2009), o método de secagem, assim como o método de extração podem resultar em diferença na atividade antioxidante de alimentos. Dessa forma, o presente trabalho visa avaliar a influência do método de secagem e do método de extração sobre as propriedades antioxidantes de beterraba.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Avaliar o efeito dos métodos de secagem e extração sobre a atividade antioxidante de beterraba, a fim de utilizá-la como um suplemento alimentar para equinos.

2.2. Objetivos específicos

- Determinar a composição centesimal (umidade, cinzas, proteínas, lipídios e fibras) e teor de minerais da beterraba *in natura*;
- Determinar o melhor método de secagem (por forno ou liofilizador);
- Determinar o melhor método de extração de compostos bioativos (por refluxo ou ultrassom);
- Determinar a atividade antioxidante dos extratos de beterraba pelos métodos de 1,1-difenil-2-picrilhidrazila (DPPH) e ácido 2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico (ABTS);
- Determinar o teor de compostos fenólicos totais e flavonoides dos extratos de beterraba.

3. JUSTIFICATIVA

Estudar os benefícios da beterraba no metabolismo equino, podendo ajudar os animais a terem um rendimento melhor dentro das arenas, e por ser uma suplementação natural ela pode diminuir os riscos de intoxicação renal, muito comum em animais atletas que são dopados com frequência.

Pensando então no bem-estar animal, procurou-se uma maneira de vitaminá-lo a longo prazo sem prejudicá-lo, e deixando-o em forma, mais saudável e preparado para as excessivas competições.

4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1. ALIMENTAÇÃO EQUINA

Os equinos podem se destacar no esporte (sendo ele profissional ou hobby), lazer e na equoterapia, trabalho este, que vem se destacando, pelos excelentes resultados positivos alcançados e de sua contribuição social.

A alimentação especial do cavalo atleta tem como objetivo fornecer nutrientes de qualidade e em quantidade para suprir as fortes exigências físicas realizadas. A adição de lipídios em dietas para equinos, substituindo os carboidratos solúveis, é uma prática vantajosa, pois os lipídios estabelecem efeitos benéficos, aumentando o desempenho para exercícios, treinamentos e competições (BRANDI, FURTADO, 2009).

Segundo Primiano (2010), os minerais são importantes para o rendimento da energia, a saúde dos tendões, cascos, articulações, musculatura, circulação sanguínea e respiração. Ainda em Primiano (2010), os minerais orgânicos são utilizados em rações de alta performance e são formados da parceria de um mineral com um aminoácido, sendo rapidamente transportados para os tecidos corporais através dos carreadores de aminoácidos e peptídeos.

De acordo com Fróes et al. (2007), a proteína é indispensável como energia para os equinos com grande carga de exercícios físicos. Segundo a mesma autora, dados sobre outras espécies animais estimam que o catabolismo proteico contribui entre 5 a 15% da energia oxidativa produzida.

Reynolds (2007) apresenta que dietas pobres em fibras podem prejudicar o animal, sendo que as alimentações com menos de 6% de fibras mostram ter maior propensão a causar cólicas e distúrbios gástricos, quando comparados a dietas com 12 a 14% de fibra. Com relação ao teor das fibras na alimentação de equinos, ainda são necessários maiores estudos para a determinação adequada da quantidade e do tipo de digestão (FRÓES et al., 1994). Braga (2006) cita que a fibra, na forma de volumoso/feno, é excelente fonte de energia para equinos. Para serem adicionadas as fibras habituais, surgem as “superfibras” que estão presentes na polpa da beterraba e na casca de soja, por apresentarem as mesmas características benéficas das fibras em geral, porém, geram uma maior concentração de energia,

decorrente da elevada concentração das fibras e da baixa concentração de lignina destes produtos.

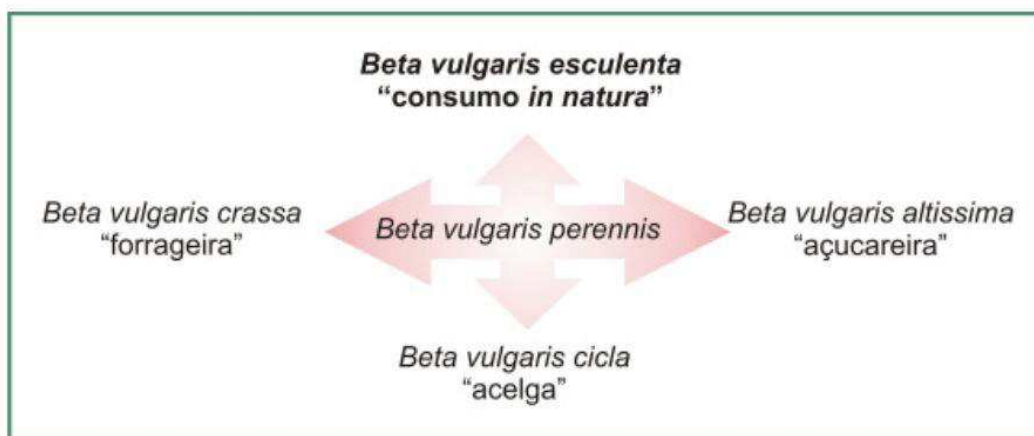
Logo, sugere a utilização de dietas fundadas em volumoso de boa qualidade e a introdução de fontes de fibra com alta concentração de energia (polpa cítrica, polpa de beterraba, casca de soja). A menor contribuição de amido para o equino pode prevenir a ocorrência de distúrbios digestivos e metabólicos. Uma boa possibilidade em aumentar a energia da dieta é unir fontes de fibra de fermentação rápida e carboidratos solúveis, contribuindo para a geração de energia através do aproveitamento das fibras, que deve ter em sua dieta no mínimo 12% de fibra (BRANDI, 2009).

4.2 BETERRABA

De acordo com Vitti, Kluge, Yamamoto (2003), a beterraba pertence à família *Chenopodiaceae*, originária do sul e do leste da Europa e norte da África. Na Grécia foi comprovada sua presença desde o ano 425 a.C.

Existem diferentes tipos de beterraba. A forma primitiva a qual se derivou a beterraba cultivada, caracteriza-se por *Beta vulgaris perennis* (CASSERES, 1981), como apresentado na Figura 1. As que produzem sementes e raízes de diferentes formas, cores e tamanhos são as formas: anual, bienal e tetra-anual.

Figura 1: Derivação da espécie *Beta vulgaris*.



(Fonte: Casseres, 1981)

As principais variedades da beterraba são a açucareira, utilizada para a produção de açúcar, a forrageira, usada para a ração de animais e a beterraba de

mesa, que é a que consumimos. Nesta variedade, as diferenças são basicamente o formato e a cor da polpa (BRAMMER, 2002).

Segundo Tivelli et al. (2011), o sistema radicular pivotante da beterraba pode alcançar a profundidade de 60 cm, com pouco afastamento lateral. A planta desenvolve raiz tuberosa púrpura. A cor vermelho-escuro específica das beterrabas do comércio, se dão pelo pigmento antocianina, cor presente também nas nervuras e nos pecíolos das folhas.

Devido à exigência de luz deste produto para passar da fase vegetal para a fase reprodutiva, há poucas espécies de cultivares de beterraba no Brasil (TIVELLI et al, 2011). Cada cultivar conta com características específicas quanto a área de plantação. Na Tabela 1, são apresentadas algumas cultivares de beterraba que são comercializados atualmente no Brasil e suas características.

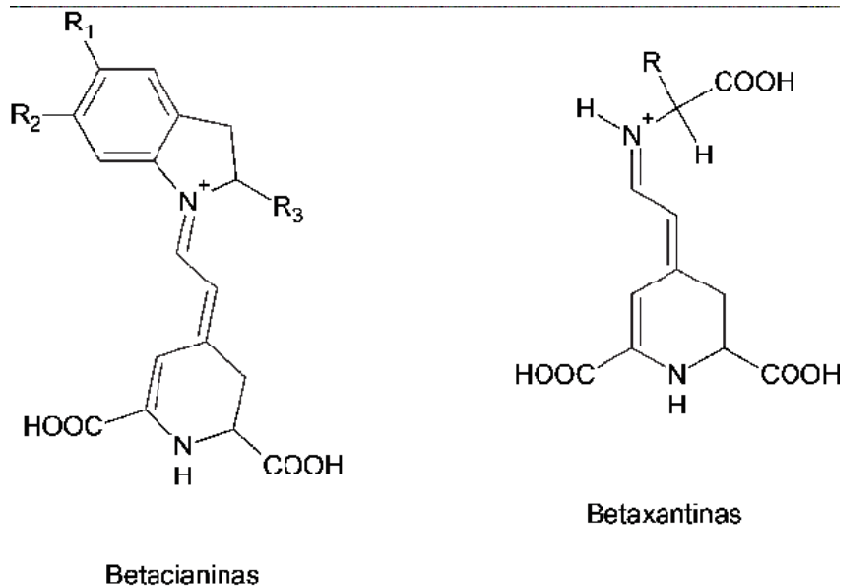
Devido à presença de pigmentos betalaínas¹ a beterraba forrageira dispõe de uma coloração vermelho-arroxeadada (VITTI, KLUGE, YAMAMOTTO, 2003).

Fenema (1995), coloca que as betalaínas se repartem em duas classes: a betaxantina (que dá a característica amarelada a hortaliça) e a betacianina (responsável pela coloração avermelhada), resultando na coloração natural da beterraba. As betalaínas estão em somente 10 famílias da ordem *Centrospermae* e são pigmentos hidrossolúveis.

As betalaínas são produtos naturais originários do metabolismo secundário, e pertencente ao grupo dos compostos nitrogenados alcalóides. São pigmentos hidrossolúveis e são separados em duas classes: as betacianina (com coloração avermelhada) e as betaxantina (com coloração amarelada) (com estrutura química apontada na figura 2), identificando a coloração típica das raízes. Estes pigmentos, além de proporcionarem cor à beterraba, são importantes substâncias antioxidantes para a dieta humana (VITTI, KLUGE, YAMAMOTTO, 2003), atuam principalmente na inibição da peroxidação lipídica, aumentando a resistência à oxidação de lipoproteínas de baixa densidade (LDL), além de apresentar efeitos quimio-preventivos e antimicrobianos (GENGATHARAN, DYKES, CHOO, 2015).

1 De acordo com Vitti; Kluge; Yamamoto; Jacomino (2003), as betalaínas são compostos semelhantes às antocianinas e flavonoides. As betalaínas além de oferecerem cor, são importantes substâncias antioxidantes para a dieta humana.

Figura 2: Estrutura química das betacianinas e betaxantinas



(Fonte: Ciências da nutrição UAtlantica, 2013)

Burns (1995), cita que para conter um produto fresco visando o preparo e consumo, é necessário uma seleção da beterraba, lavagem e deixar descansar após o corte, ou seja um processo mínimo. A beterraba pode ser considerada uma boa fonte de energia, tendo uma alta concentração de açúcares, em torno de 15%. O melaço retirado da beterraba tem uma composição variável, sendo um subproduto da beterraba, contendo de 50% a 55% de açúcares fermentescíveis (DUARTE, 2018).

Ao cortar o produto, a membrana celular e as células são automaticamente destruídas, ocorrendo assim uma modificação no metabolismo celular. A durabilidade do produto inteiro e cortado é diferente por conta desses fatores citados anteriormente. A quebra da membrana e das células resulta em um aumento na respiração e produção do etileno causando uma redução radical da vida pós-colheita do produto (BURNS,1995). Brecht (1995), aborda que o diferente tipo de cortes podem alterar na qualidade do produto, “quanto maior a gravidade da injúria nos tecidos, maior é a velocidade de deterioração”.

A beterraba tem apresentado grande expansão no mercado agrícola. Além de ela possuir substâncias químicas importantes em sua composição, ela se destaca entre as hortaliças, pelo seu conteúdo em vitaminas do complexo B e os nutrientes potássio, ferro, sódio, zinco e cobre (FERREIRA, 1990).

A beterraba é uma das 17 hortaliças propagadas por sementes mais importantes no Brasil, segundo levantamento realizado em 2014, pela Associação Brasileira do Comércio de Sementes e Mudas – ABCSEM. Estudos apontam que 13 a 25 toneladas de beterraba podem ser cultivadas em 1 hectare de terras agrícolas não-irrigadas. No caso de terras irrigadas, o rendimento se aproxima ao obtido para a cana-de-açúcar, entre 50 e 100 toneladas de beterraba (CGEE, 2010).

Marques (2010), na revista brasileira de agroecologia aborda que das regiões do Brasil, as que mais consomem a beterraba estão localizadas no estado de São Paulo, Minas Gerais e Rio Grande do Sul. Dos produtores de beterraba, 42% estão na região Sudeste, 35% na região sul e as demais regiões são responsáveis apenas por 23%. No nordeste o cultivo é limitado por ser uma região muito quente o que reduz a pigmentação do produto fazendo cair sua qualidade.

A beterraba no solo é vista como uma dos principais nutrientes e fonte de energia para o sistema, capacitado para manter a produtividade dos solos. Silva e Resck (1997) apresentam que “entre todos os benefícios da matéria orgânica, destacam-se a melhoria das condições físicas do solo, o fornecimento de energia para o crescimento microbiano” refletindo assim na maior ciclagem de nutrientes. Além disso, ela aumenta a infiltração de água no solo, diminui as perdas de erosão, melhora o solo, pois fornecem os nutrientes necessários para as plantas crescerem. (PAES, 1996).

Visto a importância da beterraba na suplementação animal, surge uma demanda de maiores estudos que viabilizam este processo de implementação, destacando-se os métodos de secagem.

4.3 MÉTODOS DE SECAGEM DE ALIMENTOS

A água dos alimentos pode ser removida de diferentes maneiras (FELLOWS, 1994; SILVA, 2000, FILHO et al. 2011): (a) secagem natural, que é caracterizada pela exposição do produto às condições climáticas do local; (b) secagem por ar aquecido, na qual são utilizados secadores cujo sistema baseia-se na circulação de ar aquecido, combinando aquecimento do produto, por condução e/ou convecção, e remoção da umidade; (c) desidratação osmótica, que é muito utilizada como pré-processo de desidratação; (d) liofilização, que funciona com o alimento congelado, depois é encaminhada para a câmara de vácuo com aumento

gradativo da temperatura, reduzindo deste modo a pressão circunvizinha, o que permite à água congelada no material passar diretamente da fase sólida para a fase gasosa sem passar pela fase líquida; (e) atomização, os quais se destacam como processos que envolvem alta tecnologia, e, portanto, são de alto custo.

Para serem secas na estufa, a beterraba pode ser cortada em rodelas e organizadas em grades como mostra a Figura 3.

Figura 3: Beterrabas cortadas, pré secagem.



(Fonte: Autoria própria)

4.4 ANTIOXIDANTES E MÉTODOS DE EXTRAÇÃO

Para Barreiros, David e Dadid (2006), os antioxidantes são substâncias que evitam a formação de radicais livres no organismo que ajudam contra o envelhecimento celular e o aparecimento de doenças como o câncer. Os antioxidantes bloqueiam o processo de oxidação neutralizando os radicais livres, com isso, eles tornam-se oxidados. Esta é a razão pela qual existe uma necessidade constante de recarregar os nossos recursos antioxidantes (NIETO et al, 2000).

Os antioxidantes podem ser encontrados nos alimentos naturais, nos suplementos de vitaminas e minerais, e nos cremes anti-idade. Entretanto, os suplementos de antioxidantes, assim como qualquer outra suplementação, devem ser aconselhados por um profissional de saúde qualificado, como o médico ou o nutricionista.

Os métodos de extração de compostos antioxidantes podem variar em termos de solventes, agitação, temperatura, entre outros fatores. O refluxo com etanol a 70% proporcionou o maior rendimento do bio-inseticida natural, didesidrostemofolina, da raiz de *Stemona collinsiae* entre os extratos preparados por diferentes métodos de extração (sonicação, refluxo, Soxhlet, maceração e percolação). Zhang (2018), comparou a eficiência de extração dos ingredientes ativos baicalina e puerarina de um composto de TCM com sete ervas com dois métodos diferentes, decocção e refluxo. Segundo os autores, o método de refluxo foi considerado melhor que o método de decocção e os maiores rendimentos de baicalina e puerarina foram obtidos a partir do método de refluxo com etanol a 60% como solvente de extração. A extração por refluxo é mais eficiente que a percolação ou maceração e requer menos tempo de extração e solvente. Não pode ser utilizado para a extração de produtos naturais termolábeis (ZHANG, 2018).

Outro método de extração é a extração assistida por ultrassom (US), que consiste na aplicação de ondas mecânicas em uma frequência acima do limiar da audição humana (> 20 KHz). Estas ondas são geradas através de um transdutor, que converte energia elétrica em energia mecânica. Dentre as vantagens apresentadas por este método frente aos métodos convencionais estão o menor tempo de processo, o consumo baixo de solvente e a alta reprodutibilidade dos ensaios (CHEMAT, HUMA, KHAN, 2011).

Na extração assistida por ultrassom (US), o principal efeito é o estresse mecânico das células da matriz vegetal, aumento da permeabilidade das paredes celulares, o que facilita a hidratação e dilatação do material através do aumento do tamanho dos poros da parede celular, facilitando o processo de difusão e transferência de massa (BENELLI, 2010). O aumento no tecido celular pode, em alguns casos, quebrar a parede celular, liberando compostos, entre eles, aromáticos, aumentando a eficiência do processo e/ou diminuindo o tempo de extração através do aumento da área de contato do sólido com o solvente. Todos os benefícios

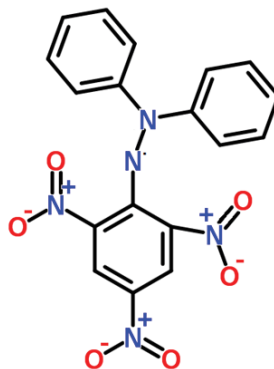
referentes a essa técnica estão diretamente ligados a potência e frequência do aparelho (VINATORU, 2001; ZHANG, 2008).

4.5 ANTIOXIDANTES E MÉTODOS DE DETERMINAÇÃO

Os métodos de determinação de atividade antioxidante mais utilizados são DPPH, ABTS e compostos fenólicos totais (BOROSKI et al., 2015).

A molécula de DPPH (Figura 4) é definida como um radical livre estável em virtude do elétron desemparelhado por toda a molécula. Com isso a molécula se identifica com uma coloração violeta, caracterizada por uma banda de absorção em etanol em cerca de 520 nm. Este ensaio se baseia na medida da capacidade antioxidante de uma determinada substância em sequestrar o radical DPPH, reduzindo-o a hidrazina (ALVES, 2010). Quando uma substância que age como doador de átomos de hidrogênio é inserida a uma solução de DPPH, a hidrazina é formada com uma mudança simultânea na coloração de violeta para amarelo pálido (ALVES, 2010). Este método é considerado, do ponto de vista metodológico, um dos mais fáceis, precisos e reprodutivos na avaliação da atividade antioxidante de sucos de frutas, extratos vegetais e substâncias puras, como flavonóides e terpenóides.

Figura 4: Estrutura DPPH.

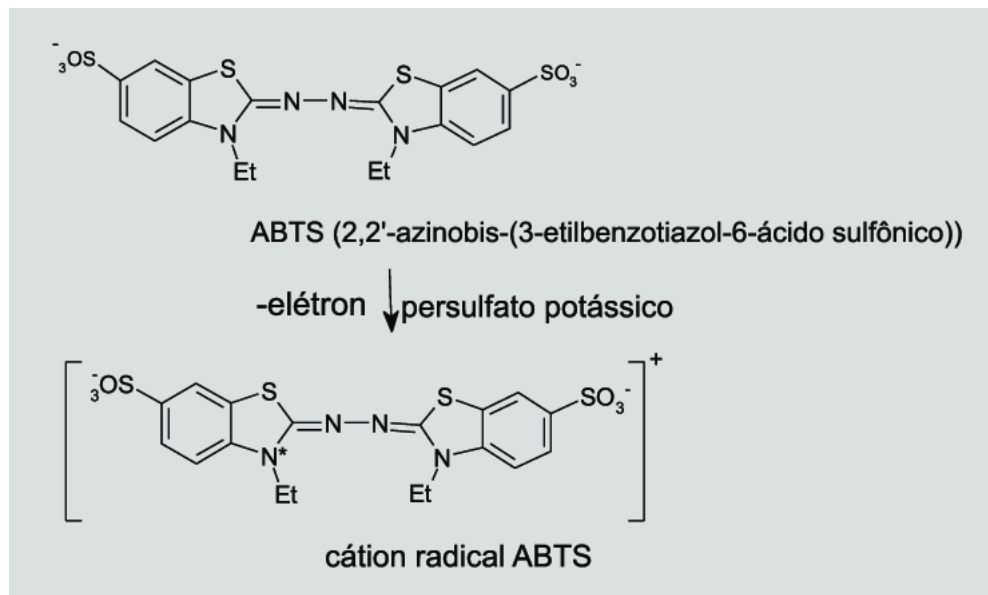


(Fonte: OLIVEIRA, 2015)

O ensaio ABTS (Figura 5) pode avaliar a atividade de compostos de natureza hidrofílica e lipofílica. Vale ressaltar que a reação com doadores de hidrogênio apresenta baixa seletividade, e dependendo do composto, como por exemplo, alguns polifenóis e produtos de origem natural, a reação com ABTS é muito lenta podendo influenciar no resultado (SURVESWARAN et al, 2007), porém, é muito eficiente na determinação de compostos antioxidantes primários. Esta

análise apura a capacidade dos extratos de folha de beterraba em sequestrar o radical cátion 2,2-azinobis (3- etilbenzotiazol-6-ácido sulfônico) (ABTS), comparado a um padrão antioxidante (Trolox, 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-ácido carboxílico) em uma curva dose-resposta. Este método é uma excelente ferramenta para determinar a atividade antioxidante de compostos doadores de hidrogênio e de compostos terminadores de cadeias (OLIVEIRA, 2015).

Figura 5: Reação do ABTS.



(Fonte: Scotti et al., 2007)

Segundo Kuskoski et al (2005) e Santos et al (2008), os compostos fenólicos presentes nos vegetais são os principais responsáveis pela atividade antioxidante. A proteção atribuída aos antioxidantes é decorrente da sua ação redutora frente a espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, que são moléculas formadas continuamente durante os processos metabólicos ou são provenientes de fontes exógenas. Quando em excesso, estas espécies reativas podem causar danos celulares e contribuir para o surgimento de doenças cardiovasculares, neurológicas e alguns tipos de câncer (NIKI et al, 2005; PRIOR et al, 1998).

Dessa forma, tendo em vista a demanda de um aperfeiçoamento na obtenção do suplemento de beterraba, as técnicas de secagem e extração de antioxidantes são relevantes como mencionado na revisão bibliográfica e determinantes para um produto melhor.

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1. COLETA E SECAGEM DAS AMOSTRAS

As beterrabas forrageiras que foram utilizadas nas pesquisas foram obtidas durante o mês de agosto de 2019, em um comércio local, de Cascavel PR. As amostras foram lavadas em água corrente e fatiadas em um ralador.

Em seguida, submeteram-se 2 kg de amostra para secagem em liofilizador. Realizaram-se testes com a beterraba *in natura* e depois de seca em forno, direto em grades de alumínio, perfuradas com círculos de 3 cm de diâmetro. Verificou-se a diferença de umidade para definir as melhores condições para atingir os valores de umidade. Dessa forma, 3 kg de beterraba foram submetidas a secagem em estufa com circulação de ar, por um período de 6 horas, à temperatura de 60 ± 2 °C, conforme Ferreira (2010), com modificações. Outros 2 Kg foram armazenadas *in natura* a vácuo para serem congeladas a -20°C, assim como as amostras secas.

5.2. EXTRAÇÃO DAS AMOSTRAS SECAS

Foram realizadas duas formas de extração, a em ultrassom que foi feita em água, por 10 minutos, com uma voltagem de 100 W, realizadas em triplicata, e a de refluxo, que também foi realiza em água, durante 3 horas, em triplicata. Em ambas utilizou-se 15 gramas de amostra para 150 mL de água. E após extraídas, as amostras foram filtradas e liofilizadas para analisar suas atividades antioxidantes.

5.3. COMPOSIÇÃO CENTESIMAL

A composição centesimal foi determinada de acordo com ADOLFO LUTZ (1985), e todas as análises foram realizadas em triplicata.

5.3.1 Perda por dessecação (umidade) – Secagem direta em estufa a 105°C

Foi colocado cerca de 5 g da amostra em uma cápsula de porcelana, previamente seca e pesada. Em seguida, o material foi aquecido durante 3 horas e deixado para resfriar em um dessecador até que a amostra estivesse na temperatura ambiente. Foi repetida a análise até que o peso permaneceu constante.

Cálculo:

$$\frac{100 \times N}{P} = \text{Umidade}$$

N = nº de gramas de umidade (perda de massa em g)

P = nº de gramas da amostra

5.3.2 Resíduo por incineração – Cinzas

Utilizou-se uma cápsula de porcelana, previamente aquecida em uma mufla a 550 °C, colocada em um dessecador para esfriar e quando estava em temperatura ambiente foi pesada e anotado seu peso. Em seguida, foi pesado na balança entre 5 a 10 g da amostra, colocada dentro das cápsulas e levada a mufla em uma temperatura de 550 °C. Em sequência, foi retirada e resfriada em um dessecador até que estivesse na temperatura ambiente e posteriormente pesada.

Cálculo:

$$\frac{100 \times N}{P} = \text{Cinzas}$$

N = nº de g de cinzas

P = nº de g da amostra

5.3.3 Lipídios totais pelo método de Bligh-Dyer

Pesou-se 3,24 g da amostra homogeneizada e foi colocado em um béquer de 150 mL. Adicionou-se 15 mL de clorofórmio e 30 mL de metanol, agitou-se. Adicionou-se novamente 15 mL de clorofórmio agitou-se mais 3 minutos, em seguida colocou-se mais 15 mL de água e agitou-se mais 5 minutos com o auxílio de um agitador mecânico, em capela química. Filtrou-se o material homogeneizado, utilizando funil de vidro com papel de filtro contendo cloreto de sódio, para um funil de separação. Após completa separação e clarificação, recolheu-se a camada de clorofórmio (inferior) em balão de fundo chato com boca esmerilhada de 250 mL, previamente tarado. Evaporou-se num evaporador rotativo no vácuo até a completa remoção do solvente. Esfriou-se em um dessecador e pesou novamente. Foi refeita esta operação de aquecimento e resfriamento até peso manter-se constante.

Cálculo:

$$\frac{p \times 4}{g} \times 100 = \text{Lipídios Totais (\%)}$$

p= peso dos lipídeos (g) contido em 5 ml

g= peso da amostra (g)

5.3.4 Proteínas Totais – Método de Kjeldahl clássico

Pesou-se na balança 1g da amostra em papel de seda. Colocou-se no balão de Kjeldahl (papel+amostra). Inseriu-se 25 mL de ácido sulfúrico e adicionou-se 6 g da mistura catalítica (dióxido de titânio anidro, sulfato de cobre anidro e sulfato de potássio anidro, na proporção 0,3:0,3:6.). Colocou-se em aquecimento em uma chapa, dentro da capela, até a solução se tornar azul-esverdeada e livre de material não digerido (pontos pretos). Aqueceu a amostra por mais uma hora, depois foi colocado para esfriar. Transferiu-se quantitativamente o material do balão para o frasco de destilação. Adicionou-se 10 gotas do indicador fenolftaleína e 1 g de zinco em pó (para ajudar a clivagem das moléculas grandes de protídios). Ligou-se imediatamente o balão ao conjunto de destilação. Mergulhou a extremidade afilada do refrigerante em 25 mL de ácido sulfúrico 0,05 mol L⁻¹, contido em frasco Erlenmeyer de 500 mL com 3 gotas do indicador vermelho de metila. Adicionou ao frasco que continha a amostra digerida, por meio de um funil com torneira, solução de hidróxido de sódio a 30% até garantir um ligeiro excesso de base. Aqueceu até a ebulição e destilou-se até obter cerca de (250-300) mL do destilado. Foi titulado o excesso de ácido clorídrico 0,05 mol L⁻¹ com solução de hidróxido de sódio 0,1 mol L⁻¹, usando vermelho de metila.

Cálculo:

$$\frac{V \times 0,14 \times f}{P} = \text{Proteínas}$$

V = diferença entre o nº de mL de ácido sulfúrico 0,05 M e o nº de mL de hidróxido de sódio 0,1 M gastos na titulação

P = nº de g da amostra

f = fator de conversão (5,75 para proteínas vegetais de acordo com RDC nº 360 de BRASIL, 2003).

5.3.5 Fibra Bruta

Pesou-se 2 g da amostra, embalou-se em papel de filtro e foi amarrado com lã. Foi feita extração contínua em aparelho de Soxhlet, usou-se éter como solvente. Aqueceu-se em estufa para eliminar o resto de solvente. O resíduo foi transferido para um frasco Erlenmeyer de 750 mL, com boca esmerilhada. Adicionou-se 100 mL de solução ácida e 0,5 g de agente de filtração. Adaptou-se o frasco Erlenmeyer a

um refrigerante de refluxo por 40 minutos a partir do tempo em que a solução ácida foi adicionada, mantendo sob aquecimento. Agitou-se com frequência, a fim de evitar que gotas sequem na parede do frasco. Foi filtrado em um cadinho de Gooch previamente preparado com areia diatomácea e com auxílio de vácuo.

Foi lavado com água fervente até que a água de lavagem não tenha reação ácida. Para lavar utilizou 20 mL de álcool e 20 mL de éter. Foi aquecido em estufa a 105°C, por 2 horas. Resfriado em um dessecador até a temperatura ambiente e foi pesado, após, repetiu-se as operações de aquecimento e resfriamento até ter peso constante. Incinerou em uma mufla a 550°C. Resfriou em um dessecador até a temperatura ambiente. Pesou-se, repetiu esta operação de aquecimento e resfriamento até ter um peso constante. A perda de peso foi igual à quantidade de fibra bruta (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985).

5.4. DETERMINAÇÃO DE MINERAIS

As digestões foram feitas em triplicata, sendo preparado os brancos, pesou-se 0,2500 ± 0,010 g de amostra e adicionou-se 3 mL de HNO₃ concentrado e foi deixado por 16 h, depois, aqueceu a 125 °C por 2,5 horas, aumentando a temperatura gradativamente. Em seguida, deixou-se esfriar no dessecador. Adicionou-se 3 mL de H₂O₂ e aqueceu a 125 °C por 2 h, em tubo parcialmente aberto. Aqueceu a 200 °C em tubo aberto, até a eliminação total do solvente. Foi feito a redissolução quantitativa do resíduo com 25 mL HNO₃ 2 % (m/v) (DULCE, et al., 2015).

5.5. ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELA CAPTURA DO RADICAL LIVRE (ABTS)

Preparou-se uma solução estoque de ABTS 7 mol L⁻¹, onde dissolveu 192 mg de ABTS em água destilada, colocou-se em um balão volumétrico (50 mL), e completou até o menisco com água destilada, homogeneizou-se e transferiu-se para um frasco de vidro âmbar, devidamente etiquetado a temperatura ambiente.

Segunda solução que foi feita é a de persulfato de potássio 140 mM, iniciou o preparo dissolvendo 378,4 mg de persulfato de potássio em água destilada, transferiu-se para um balão volumétrico (10mL) e completou até o menisco, colocou-

se em um frasco de vidro âmbar com identificação e foi mantido a temperatura ambiente.

Após, preparou-se o radical ABTS, ele foi preparado utilizando 5 mL da solução estoque de ABTS misturado com 88 mL da solução de persulfato de potássio. Esta solução foi mantida em locais escuros, à temperaturas ambientes por 16 horas. Em seguida, foi diluído 1 mL desta mistura chamada de radical ABTS em álcool etílico, obteve uma absorvância de $0,70 \text{ nm} \pm 0,05 \text{ nm}$ a 734 nm. A mistura foi usada apenas no dia do preparo para realizar as análises.

Por último, foi preparada a solução padrão de Trolox $2 \mu \text{molL}^{-1}$. Inicialmente foi dissolvido 25 mg de trolox em álcool etílico, colocou em um balão volumétrico (50 mL) e completou com álcool etílico até o menisco, homogeneizou e foi transferido para um frasco de vidro âmbar devidamente identificado e foi armazenado em um congelador. Para a curva padrão do Trolox, preparou-se balões volumétricos com 10 mL, adicionou-se solução padrão de trolox ($2.000 \mu \text{molL}^{-1}$), em ambiente escuro foi transferido 30 mL de cada solução de trolox ($100 \mu \text{molL}^{-1}$, $500 \mu \text{molL}^{-1}$, $1.000 \mu \text{molL}^{-1}$, $1.500 \mu \text{molL}^{-1}$ e $2.000 \mu \text{molL}^{-1}$) e misturado com 3 mL da solução de radical ABTS, homogeneizou-se, de preferência em um agitador de tubos e realizou a leitura após 6 minutos. Para isso utilizou-se álcool etílico como branco para zerar o espectrofotômetro.

A determinação da atividade antioxidante total, segundo Rufino et al (2007), foi obtida através do extrato do item anterior, onde foram preparados tubos de ensaio com uma diluição 10 para 25, em triplicata e feita em ambiente escuro. Transferiu-se uma alíquota de 30 μL do extrato da amostra para tubos de ensaio contendo 3 mL do radical ABTS (homogeneizou-se em um agitador de tubos), na sequência realizou a leitura com comprimento de onda de 734 nm após 6 minutos.

5.6. CAPACIDADE DE CAPTURA DO RADICAL 2,2-DIFENIL-1-PICRIL-HIDRAZILA (DPPH)

Todos os testes para determinar a capacidade de capturar os radicais livres foram feitas em triplicata e para isso utilizou-se o DPPH, com modificações No início, utilizou-se 50 μL de soluções aquosa dos extratos ($2,5 \text{ mg mL}^{-1}$), adicionou-se 3 mL de solução metanólica de DPPH ($0,06 \text{ mmol L}^{-1}$), feita no escuro e mantida por 30

minutos a temperatura ambiente. Utilizou água destilada como branco para medir a absorvância no espectrofotômetro a 517 nm.

Cálculo:

$$\frac{A_{\text{controle}} - A_{\text{amostra}} \times 100}{A_{\text{controle}}} = \text{Atividade Antioxidante (\%)}$$

Onde:

A controle = absorvância da solução de DPPH sem a amostra;

A amostra = absorvância da amostra com o DPPH.

5.7. COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS (TPC)

O TPC (compostos fenólicos totais) foi determinado pela metodologia criada por Singleton e Rossi (1965), onde utiliza-se reagentes Folin-Ciocalteu, porém com algumas mudanças. Adicionou-se em tubos de ensaio 250 μL de soluções aquosas preparadas anteriormente com extrato na concentração de 2,5 mg mL^{-1} contidos com 250 μL do reagente de Folin-Ciocalteu, diluído em água destilada em uma proporção de 1:1, colocou-se também 500 μL de uma solução saturada de carbonato de sódio (Na_2CO_3) e 4 mL de água destilada. As soluções foram incubadas no escuro por 25 minutos, centrifugadas por 10 minutos a 3.000 rpm e para medir a absorvância no espectrofotômetro UV-VIS, utilizou-se uma medida de 725 nm contra o branco. Todas as análises foram realizadas em triplicata. Utilizou-se ácido gálico para realizar a curva de calibração.

5.8. TEOR DE FLAVONOIDES (FLA)

O FLA (teor de flavonoides) foi determinado pelo método escrito por Woisky e Salatino (1998), porém, com modificações. Inicialmente, foram preparadas soluções aquosas de extratos (2,5 mg mL^{-1}), 500 μL dessa solução foi colocada em tubos de ensaio, logo em seguida, adicionou-se 250 μL de AlCl_3 5% (m/v em metanol) e 4,25 mL de metanol, após 30 minutos mediu-se a absorvância em um espectrofotômetro UV-VIS a 425 nm, medida em temperatura ambiente. Todas as análises foram feitas em triplicata. E utilizou-se quercitina para a realizar a curva de calibração.

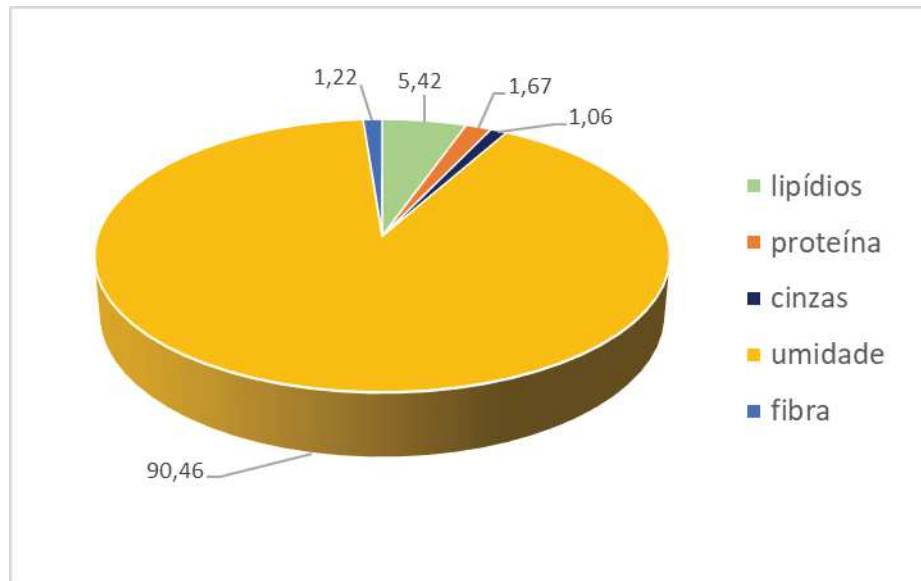
5.9. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todas as análises foram realizadas em triplicata e os resultados expressos em média \pm desvio padrão. Os resultados contendo duas médias foram submetidos ao teste T (5% de probabilidade), e os resultados com três ou mais médias foram submetidos à análise de variância (ANOVA), seguida de comparação das médias pelo teste de Tukey (5% de probabilidade) realizada pelo RStudy.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Inicialmente, realizaram-se as análises da composição centesimal da beterraba *in natura*, como é mostrado os resultados na Figura 6.

Figura 6 – Composição centesimal da beterraba (g/100g)



(Fonte: Autoria própria)

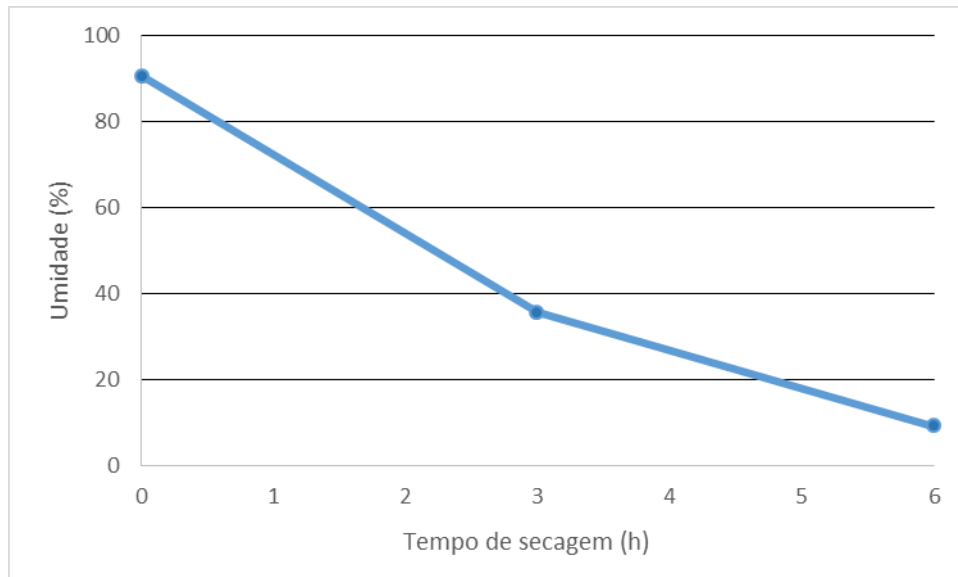
A beterraba *in natura* apresentou 90,46% de umidade. Dentre as outras análises de composição centesimal, os lipídios se destacam com aproximadamente 5,42%, seguido de proteínas que representou menos da metade dos lipídios, cerca de 1,69%, sucessivo de fibras que foi 1,22% e a determinação de cinzas que foi encontrado 1,06%, valor muito próximo ao encontrado por Tivelli et al. (2011) que foi de 1,10%.

Sequencialmente, fez-se a secagem das amostras por liofilização e em forno com circulação de ar. A beterraba seca em liofilizador apresentou um teor de umidade de 3,85%. As amostras secas diretamente nas grades da estufa a 60°C, por 6 horas, apresentaram 9,26% de umidade, deixando-as secas, com aspecto quebradiço (Figura 7). Não deixou-se mais tempo na estufa para não correr o risco de degradar os nutrientes da amostra.

Os teores de umidade encontrados para resíduos secos na temperatura avaliada, 60°C, após 6 horas de secagem, foram abaixo de 15%, estando dentro do

padrão preconizado na legislação vigente no país para farinhas de trigo (BRASIL, 2005).

Figura 7 – Redução de umidade da beterraba seca em forno a 60°C.



(Fonte: Autoria própria)

Para a primeira secagem realizada, utilizou-se as amostras de beterraba em bandejas retangulares, a estufa a 60°C por um período de 4 horas, conforme Ferreira (2010). Porém, nessa temperatura para este tempo, obteve-se uma taxa de secagem muito baixa, ficando com 35,59% de umidade na amostra, como mostra na Figura 7.

Na Tabela 1, para as análises de minerais da amostra *in natura*, obteve-se valores muito próximos ao encontrado por Oliveira (2013), (109 mg100g⁻¹ para cálcio, 177 mg100g⁻¹ para fósforo, 189 mg100g⁻¹ para magnésio, 99 mg100g⁻¹ para sódio). Já para Grangeiro et al (2007), o valor encontrado para magnésio foi um total de 252,37 mg100g⁻¹. Como o esperado, as amostras *in natura* apresentaram um valor maior de minerais que a seca e a liofilizada.

Tabela 1: Minerais na amostra da beterraba.

| Minerais (mg/100g)* | | | |
|----------------------------|-------------------------|----------------------|--------------------|
| Nutriente | <i>In Natura</i> | Seca em forno | Liofilizada |
| Cálcio | 195,69 ± 0,17 | 43,00 ± 3,27 | 49,31 ± 3,08 |
| Fósforo | 218,93 ± 0,30 | 49,73 ± 1,73 | 62,06 ± 7,41 |
| Ferro | 3,49 ± 0,01 | 0,81 ± 0,02 | 0,99 ± 0,11 |
| Zinco | 5,73 ± 0,01 | 1,32 ± 0,08 | 1,64 ± 0,037 |
| Manganês | 10,97 ± 0,02 | 2,29 ± 0,19 | 3,479 ± 0,18 |
| Magnésio | 265,26 ± 1,18 | 59,04 ± 4,21 | 66,13 ± 3,47 |
| Sódio | 113,58 ± 0,64 | 26,73 ± 2,73 | 29,99 ± 2,62 |
| Potássio | 4068,91 ± 2,67 | 898,05 ± 44,50 | 997,20 ± 20,35 |

*Base seca
(Fonte: Aatoria própria)

Na Tabela 2, comparam-se as duas formas diferentes de extração utilizadas neste trabalho, sendo elas, refluxo e ultrassom, para cada tipo de secagem, liofilizada ou seca na estufa. Para fenólicos totais houve uma diferença significativa ($P < 0,05\%$) entre as formas de extração para as amostras liofilizadas, já para as secas em forno não houve.

Tabela 2: Teor de compostos fenólicos e flavonoides.

| Extração\Secagem | Fenólicos (mgEAG/g extrato) | |
|-------------------------|-------------------------------------|----------------------------|
| | Liofilizada | Seca em estufa |
| Refluxo | 13,21 ± 0,28 ^{Ba} | 12,64 ± 0,24 ^{Aa} |
| Ultrassom | 10,34 ± 0,12 ^{Aa} | 12,36 ± 0,19 ^{Ab} |
| | Flavonoides (mgEQ/g extrato) | |
| | Refluxo | 2,12 ± 0,14 ^{Ab} |
| Ultrassom | 5,54 ± 0,23 ^{Bb} | 4,15 ± 0,23 ^{Ba} |

Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna representam diferença significativa ($P < 0,05$) em cada análise para cada tipo de secagem; Letras minúsculas diferentes na mesma linha representam diferença significativa ($P < 0,05$) em cada análise para cada tipo de extração.
(Fonte: Aatoria própria)

Houve diferença significativa ($P < 0,05\%$) também entre o tipo de secagem para a extração por ultrassom, o que não ocorreu entre a secagem para as amostras

com extração por refluxo. Já para flavonoides, houve uma diferença significativa ($P < 0,05\%$) tanto na forma de extração quanto no tipo de secagem, sendo mais que o dobro uma da outra, tornando assim o método de ultrassom mais indicado para esse determinado grupo de antioxidantes na amostra de beterraba, tanto seca em estufa, como liofilizada.

Os compostos fenólicos, apesar de não apresentarem importância nutricional direta, têm recebido muita atenção devido a sua atividade biológica. Uma atraente hipótese sugere que os alimentos vegetais que contenham metabólitos secundários apresentem efeitos benéficos à saúde, entre os quais o de anti-inflamatórios e antioxidantes (HARBORNE & WILLIAMS, 2000).

Foi encontrado para fenólicos com a metodologia de extração por ultrassom, valores em média de 11,35 (mgEAG/g extrato), valores próximos de LASTA et al (2017), que foram de 21,00 (mgEAG/g extrato de folha de beterraba). Em Aguiar (2017), foi encontrado nas amostras de beterraba valores para flavonoides em média de $1,02 \pm 0,01$ (mgEQ/g extrato), valor muito próximo ao encontrado nas análises deste trabalho para a extração em refluxo com amostra seca na estufa, ficou com valor de $1,70 \pm 0,07$ (mgEQ/g extrato).

Observando a Tabela 3, para o DPPH houve diferença significativa ($P < 0,05\%$) entre os tipos de extração e para a forma de secagem, sendo que na liofilizada obteve a maior diferença numeral.

Tabela 3: Atividade antioxidante.

| Extração\Secagem | DPPH ($\mu\text{mol ET/g extrato}$) | |
|------------------|---------------------------------------|------------------------------|
| | Liofilizada | Seca em estufa |
| Refluxo | $47,04 \pm 2,12^{\text{Bb}}$ | $40,64 \pm 0,80^{\text{Aa}}$ |
| Ultrassom | $25,44 \pm 3,49^{\text{Aa}}$ | $52,37 \pm 1,22^{\text{Bb}}$ |
| Extração\Secagem | ABTS ($\mu\text{mol ET/g extrato}$) | |
| | Liofilizada | Seca em estufa |
| Refluxo | $74,20 \pm 9,17^{\text{Aa}}$ | $74,20 \pm 3,61^{\text{Aa}}$ |
| Ultrassom | $112,20 \pm 6,24^{\text{Bb}}$ | $83,87 \pm 4,16^{\text{Ba}}$ |

Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna representam diferença significativa ($P < 0,05$) em cada análise para cada tipo de secagem; Letras minúsculas diferentes na mesma linha representam diferença significativa ($P < 0,05$) em cada análise para cada tipo de extração.
(Fonte: Autoria própria)

Os extratos obtidos tanto por ultrassom como por refluxo, para amostras secas em estufa, apresentaram valores de DPPH de $52,37 \pm 1,22$ e $40,64 \pm 0,80$ $\mu\text{mol ET/g extrato}$, respectivamente. Este resultado é ligeiramente inferior ao

potencial antioxidante encontrado para o antioxidante sintético BHT (67 $\mu\text{mol ET/g}$ extrato) no trabalho realizado por Cruz (2016). Esses valores indicam um alto potencial antioxidante do extrato da beterraba e seu possível emprego como antioxidante industrial.

Já para a análise de ABTS não houve diferença significativa ($P < 0,05\%$) entre a forma de secagem para extrações de refluxo. Porém, houve diferença significativa ($P < 0,05\%$) entre os métodos de extração e as amostras extraídas por ultrassom tiveram diferenças significativas ($P < 0,05\%$) entre as formas de secagem (liofilizada apresentou os valores maiores, $112,20 \pm 6,24 \mu\text{mol ET/g}$ extrato). Quando avaliou o potencial antioxidante pelo ABTS dos extratos de talo de beterraba obtidos por ultrassom, Bergamaschi (2010) encontrou 121,48 ($\mu\text{M ET/g}$ extrato) utilizando etanol (80 %) e 79,67 ($\mu\text{M ET/g}$ extrato) utilizando água, respectivamente. Esses valores são muito parecidos com os obtidos nas análises realizadas neste trabalho.

Dessa forma, verifica-se que os valores obtidos foram de grande relevância, e a farinha de beterraba produzida, principalmente, por liofilização, em combinação com o extrato preparado, principalmente, por ultrassom, indicam alto potencial para serem utilizados na produção da farinha animal com propriedades bioativas conservadas.

7. CONCLUSÃO

Segundo os resultados obtidos, comparando a amostra seca em forno com a liofilizada, observou-se que a secagem por liofilização resultou, no geral, em valores maiores de atividade antioxidante e de minerais para as amostras de beterraba.

Da mesma forma, a extração assistida por ultrassom pode ser um meio potencial melhor para extrair compostos bioativos da beterraba, sendo que seus valores em termos de atividade antioxidante e flavonoides foram superiores ao da extração por refluxo que foi testada também neste trabalho.

Assim, para a melhor conservação dos compostos bioativos, e consequente preservação da atividade antioxidante, o melhor método de secagem de beterraba para obtenção de farinha é por liofilização e o melhor método de extração é por ultrassom.

REFERÊNCIAS

AGUIAR, J. M. V. **Determinação de compostos bioativos em frutas e vegetais consumidos na Região Autónoma da Madeira.** 2017.

ALMEIDA, F. Q.; SILVA, Vinicius P. **Progresso científico em equideocultura na 1ª década do século XXI.** R. Bras. Zootec. v. 39, supl. spe, p. 119-129, Viçosa 2010.

ALVES, C. Q. et al. **Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos.** Salvador, 2010.

AMORIM, R. M. et al. **Aspectos morfológicos de biópsias musculares em equinos com miopatia sob forma de surto.** Pesq. Vet. Bras., v. 31, n. 7, p. 579-585, Rio de Janeiro 2011.

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, Jorge M.; DAVID, Juceni P. **Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo.** Química nova, v. 29, n. 1, p. 113, Salvador, 2006.

BEET, guabi. **"Ração de beterraba".** 2019. Disponível em: <http://www.guabi.com.br/produto/guabitech-beet/> . Acesso em 27/11/2019.

BENELLI, P. **Agregação de valor ao bagaço de laranja (Citrus sinensis L. Osbeck) mediante obtenção de extratos bioativos através de diferentes técnicas de extração. (Dissertação de mestrado).** Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2010.

BERGAMASCHI, K.B. **Capacidade antioxidante e composição química de resíduos vegetais visando seu aproveitamento.** Dissertação (Mestrado). Universidade de São Paulo. Piracicaba. 2010.

BOROSKI, M.; VISENTAINER, J.V.; COTTICA, S.M.; MORAIS, D.R. **Antioxidantes: princípios e métodos analíticos.** 1. Ed., Curitiba, Appris, 2015. 141p.

BRAGA, A. C. **Níveis de fibras na dieta total de equinos.** Brasília, 2006.

- BRAMMER, S. P. **Variabilidade e diversidade genética vegetal: requisito fundamental em um programa de melhoramento**. Embrapa, Passo Fundo, 2002.
- BRANDI, R. A.; FURTADO, C. E. **Importância nutricional e metabólica da fibra na dieta de equinos**. R. Bras. Zootec. v. 38, n. spe, p. 246-258, Viçosa, 2009.
- BRECHT, J.K. **Physiology of lightly processed fruits and vegetables**. HortScience, v. 30, n. 1, p. 18-22, 1995.
- BURNS, J.L. **Lightly processed fruits and vegetables: Introduction to the Colloquium**. HortScience, v. 30, n. 1, p. 14-17, 1995.
- CGEE - Relatório Anual - **Centro de Gestão e Estudos Estratégicos**, p. 127. Brasília, 2010
- CHEMAT, F.; HUMA, Z.; KHAN, M. K. **Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction**. Ultra. Sonochem, v. 18 p. 813–835, 2011.
- CRUZ, P.N. **Potencial antioxidante e antimicrobiano dos extratos obtidos da semente de butiá da praia (Butia catarinensis)**. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos. UFSC. Florianópolis, 2016.
- DUARTE, A. L. **Análises de parâmetros físico-químicos e macronutrientes na beterraba (beta vulgaris l) crua e cozida**. São Luís-MA. 2018.
- DULCE, M.; JIMÉNEZ, A.; MICHAEL A.; GRUSAK, A. **Evolution of Minerals, Phytochemical Compounds and Antioxidant Activity of Mexican, Central American, and African Green Leafy Vegetables, Plant Foods** p. 357–364. 2015
- ELIAS, M. C. et al. **Umidade de colheita, métodos de secagem e tempo de armazenamento na qualidade tecnológica de grãos de trigo (cv. 'Embrapa 16')**. Cienc. Rural, v. 39, n. 1, p. 25-30. Santa Maria, 2009 .
- FELLOWS, P. **Tecnología del processado de los alimentos: principios y prácticas**. Traducido por F. J. S. Trepal. Zaragoza: Acribis, 1994.

FENEMA, O.R. **Química de los alimentos**. 2º ed. p. 586. Zaragoza: Acribia, 1995.

FERREIRA, M.D.; TIVELLI, S.W. **Cultura da beterraba: recomendações gerais**. P.14. Guaxupé, 1990.

FILHO, D. G. A.; EIDAM, T.; BORSATO, A. V.; Raupp, D. S. **Processamento de produto farináceo a partir de beterrabas submetidas à secagem estacionária**. v 33, Maringá, 2011.

FRÓES, C. N. et al. **Efeitos de dietas práticas com diferentes níveis de proteína bruta na sobrevivência e crescimento do camarão-rosa *Farfantepenaeus paulensis***. 2007.

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

GRANGEIRO, L. C. et al. **Acúmulo e exportação de nutrientes em beterraba**. Ciência e Agrotecnologia, v. 31, n. 2, p. 267-273, 2007.

HARBONE, J. B.; WILLIAMS, C. A. **Advances in flavonoid research**. Phytochemistry 55: 481-504. 2000

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. v. 1: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos**, 3. ed. São Paulo: IMESP, 1985. p. 21-22, p. 56.

KUSKOSKI, E. M.; ASUERO, A. G.; TRONCOSO, A.M.; MANCINI-FILHO, J.; FETT, R. **Aplicação de diversos métodos químicos para determinar atividade antioxidante em polpa de frutos**. Ciência e Tecnologia de Alimentos, v.25, n.4, p.726-732, 2005.

LASTA, H. F. B. et al. **Potencial antioxidante dos extratos dos resíduos de beterraba vermelha (*Beta vulgaris* L.) obtidos a alta e baixa pressão**. Florianópolis, 2017.

MARQUES, L. F. et al. **Produção e qualidade da beterraba em função da adubação com esterco bovino.** Revista Brasileira de Agroecologia, v. 5, n. 1, p. 24-31, 2010.

NIETO, N.; TORRES, M. I.; FERNÁNDEZ, M. I.; GIRÓN, M. D.; RÍOS, A.; SUÁREZ, M. D. **Experimental ulcerative colitis impairs antioxidant defense system in rat intestine.** Digestive diseases and sciences, v. 45, n. 9, p. 1820-1827, 2000.

NIKI, E.; YOSHIDA, Y.; SAITO, Y.; NOGUCHI, N. **Lipid peroxidation: Mechanisms, inhibition, and biological effects.** Biochemical and Biophysical Research Communications, Califórnia, v. 338, n. 1, p. 668-676, 2005.

OLIVEIRA, L. P. de et al. **Avaliação e composição nutricional da farinha de beterraba e sua utilização no preparo de sobremesas.** Revista Interdisciplinar de Estudos em Saúde, v. 2, n. 1, p. 13-19, 2013.

OLIVEIRA, G. L. S. **Determinação da capacidade antioxidante de produtos naturais in vitro pelo método do DPPH: estudo de revisão.** Rev. bras. plantas medicinais, v. 17, n. 1, p. 36-44, Botucatu, 2015.

PAES, R. R. **Aprendizagem e competição precoce: o caso do basquetebol.** 3.ed. Campinas, 1996.

PRIMIANO, F. M. **Manejo e Nutrição do Cavalo Atleta.** Pet Food Brasil. p. 16 – 18. 2010

PRIOR, R. L.; CAO, G.; MARTIN, A.; LISCHNER, N.; EHLENFELDT, M.; KALT, W.; KREWER, G.; MAINLAND, C. M. **Antioxidant capacity as influenced by total phenolics and anthocyanin content, maturity, and variety of *Vaccinum* species.** Journal of Agricultural and Food Chemistry, Washington, v. 46, n. 7, p. 2686-2693, 1998.

REYNOLDS, J. **A new look at fiber in horse feeds.** Equine nutrition in the 21st century, 2007.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; JIMENEZ, J. P.; CALIXTO, F. D. S. **Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH.** Comunicado Técnico Embrapa, 127: 1-4, 2007.

SANTOS, G. M.; MAIA, G. A.; SOUSA, P. H. M.; COSTA, J. M. C.; FIGUEIREDO, R. W.; PRADO, G. M. **Correlação entre atividade antioxidante e compostos bioativos de polpas comerciais de açaí (*Euterpe oleracea* Mart).** Archivos Latinoamericanos de Nutricion, Caracas, v. 58, n. 2, p. 187-192, 2008.

SCOTTI, L. et al. **Modelagem molecular aplicada ao desenvolvimento de moléculas com atividade antioxidante visando ao uso cosmético.** Rev. Bras. Cienc. Farm. v. 43, n. 2, p. 153-166. São Paulo, 2007.

SILVA, J. A. **Tópicos da tecnologia dos alimentos.** São Paulo, 2000.

SILVA, J. E.; RESCK, D. V. S. **Matéria orgânica do solo.** Biologia dos solos dos cerrados. p.467-524. Planaltina, 1997.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. **Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents.** American journal of Enology and Viticulture, v. 16, n. 3, p. 144-158, 1965.

SURVESWARAN, S. et al. **Systematic evaluation of natural phenolic antioxidants from 133 Indian medicinal plants.** Food Chemistry V.102, p.938–953, 2007.

TIVELLI, S. W.; FACTOR, T. L.; TERAMOTO, J. R. et al. **Beterraba: do plantio à comercialização.** Boletim Técnico IAC – Instituto Agrônomo Campinas - nº 210, p. 45. Campinas, 2011.

VINATORU, M. **An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs.** Ultrasonics Sonochemistry, v. 8, p. 303-13, 2001.

VITTI, M. C. D.; KLUGE, R. A.; YAMAMOTTO, L. K. **Comportamento da beterraba minimamente processada em diferentes espessuras de corte.** Horticultura Brasileira. v. 21, n. 4, p. 623-626, Brasília 2003.

WOISKY, R. G.; SALATINO, A. 1998. **Analysis os propolis: some parameters ond prodecore for chemical fuality control.** J. Apic. Res. 37(2):99-105, 1998.

ZHANG, A. **Techniques for extraction and isolation of natural products: a comprehensive review.** *Chinese medicine* vol. 13 20. Abril, 2018