

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E COMPOSTOS BIOATIVOS PRESENTES EM EXTRATOS DE BETERRABA

EVALUATION OF ANTIOXIDANT ACTIVITY AND BIOACTIVE COMPOUNDS PRESENT IN BEET EXTRACTS

Bruna Caroline Pazinato¹
Dhiennefer Teixeira Marques¹
Cristina Peitz De Lima²

RESUMO: A beterraba (*Beta vulgaris rubra*) é encontrada facilmente em toda época do ano sendo de fácil acesso e custo acessível para todos os públicos. Ultimamente tem crescido o interesse por estudos com antioxidantes naturais, isso se deve à relevância do conhecimento das propriedades antioxidantes de vários alimentos. Nesse sentido, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a concentração de compostos fenólicos, flavonóides e atividade antioxidante de três tipos de extratos de *Beta vulgaris rubra*. Para a determinação dos compostos fenólicos foi empregado o método de Folin Ciocalteu e para flavonóides o cloreto de alumínio a 2%. A avaliação da atividade antioxidante foi determinada através do método de redução do complexo fosfomolibdênico. Para a obtenção dos extratos foram utilizados o método de maceração e decocção, por meio de três solventes: água, etanol 77% e propilenoglicol. Os valores dos compostos fenólicos obtidos foram entre 299,97 a 457,45µg/mL, para flavonóides foram entre 42,76 a 46,92µg/mL. A atividade antioxidante variou entre 50,19 a 83,56µg/mL, a mesma é justificada pela presença de compostos fenólicos e flavonóides. Os resultados indicam perspectivas promissoras para a exploração de hortaliças, que apresentam níveis consideráveis de capacidade antioxidante e compostos bioativos.

Descritores: *Beta vulgaris*, beterraba, antioxidante, extrato natural.

ABSTRACT: Beetroot (*Beta vulgaris rubra*) is easily found throughout the year, being easily accessible and affordable to all audiences. Lately, the interest in studies with natural antioxidants has grown, this is due to the relevance of knowledge of the antioxidant properties of various foods. The aim of this work was to evaluate the concentration of phenolic compounds, flavonoids and antioxidant activity of three types of extracts of *Beta vulgaris rubra*. For the determination of phenolic compounds, the Folin Ciocalteu method was used, for flavonoids 2% aluminum chloride. The evaluation of the antioxidant activity was determined through the phosphomolybdenum complex reduction method. To obtain the extracts, the method of maceration and decoction was used, using three solvents: water, 77% ethanol and propylene glycol. The values of phenolic compounds obtained were between 299.97 to 457.45µg/mL, for flavonoids they were between 42.76 to 46.92µg/mL. The antioxidant activity ranged from 50.19 to 83.56µg/mL, which is justified by the presence of phenolic compounds and flavonoids. The results found promising prospects for the exploration of vegetables, which have considerable levels of antioxidant capacity and bioactive compounds.

Key-words: *Beta vulgaris*, beetroot, antioxidant, natural extract.

¹ Formadas em Farmácia pelo Centro Universitário Autônomo do Brasil - UniBrasil

² Professora do Centro Universitário Autônomo do Brasil - UniBrasil

1. INTRODUÇÃO

O potencial antioxidante dos alimentos está diretamente ligado à presença de compostos bioativos na matriz alimentar. Cada vez mais os consumidores evitam alimentos que contenham corantes sintéticos, o que leva as indústrias alimentícias a substituí-los por naturais, como carotenóides, betalaína, entre outros ^(1,2).

As frutas e vegetais passaram a ter maior importância na dieta como alimentos capazes de prevenir ou adiar o aparecimento de diversas doenças crônicas em decorrência de seus conteúdos fitoquímicos. Por isso, as pessoas tendem a consumir produtos à base de frutas e vegetais com altos níveis de fitonutrientes bioativos. Dentro deste contexto, a beterraba vermelha (*Beta vulgaris rubra*) é uma fonte rica em betalaínas, que demonstram elevada capacidade antioxidante ⁽³⁾. Existem duas classes de betalaínas: as betaxantinas amarelas e as betacianinas vermelhas, ambas biossintetizadas a partir do ácido betalâmico ⁽⁴⁾.

A *Beta vulgaris rubra* é cultivada principalmente para uso de suas raízes, que possuem alto valor nutricional ⁽⁵⁾. A *Beta vulgaris rubra* é um vegetal que pertence ao gênero *Beta* e à família das *Chenopodiaceae*, esta família contém cultivos alimentares importantes, como *Spinacia oleracea* (espinafre), que é a verdura mais consumida na Europa, *Salsola kali* (salsa espinhosa), *Beta vulgaris cicla* (acelga), e *Chenopodium quinoa*, comumente conhecido como quinoa ⁽⁶⁾. A beterraba também apresenta muitos minerais como potássio, sódio, fósforo, cálcio, magnésio, cobre, ferro, zinco e manganês ⁽⁷⁾.

Os extratos de frutas e vegetais que possuem atividade antioxidante são de grande interesse para a indústria de alimentos e cosmética, pois a presença de radicais livres em alimentos e cosméticos, leva à oxidação de lipídios, causando mudanças sensoriais indesejáveis e sabor desagradável e, portanto, a diminuição na vida útil dos produtos. Ocorre também a produção de radicais livres no ser humano, promovendo a mutação de DNA, oxidação de proteínas e peroxidação lipídica, que são condições diretamente relacionadas à formação de algumas doenças como: aterosclerose, câncer e diabetes ⁽⁸⁾.

Assim, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a concentração de compostos fenólicos, flavonoides e atividade antioxidante de três tipos de extratos de *Beta vulgaris rubra*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MATERIAL

Foi adquirida uma amostra de 500g de raízes de beterraba, no comércio local de Curitiba, PR. Como critério de inclusão foram selecionadas beterrabas de produção orgânica. Como critérios de exclusão, as mesmas não continham indícios de contaminação e partes faltantes.

2.2 PREPARO DO EXTRATO

Para o preparo dos extratos foi utilizado o método de maceração a frio e decocção, sendo realizadas três preparações com líquidos extratores diferentes: água, etanol 77% e propilenoglicol. Para cada extrato, foi utilizado 50g de beterraba *in natura*, descascadas e cortadas em pedaços pequenos. O material foi triturado em um liquidificador e em seguida adicionado os líquidos extratores correspondentes.

Extrato aquoso: a extração foi realizada com 50g da beterraba *in natura* e adicionado 200 mL de água purificada. Após, foi realizada a decocção por 5 minutos e o líquido obtido foi filtrado e completado o volume para 250 mL em uma proveta. O extrato foi armazenado no freezer.

Extrato alcoólico: a extração foi realizada com 50g da beterraba *in natura*, e adicionado 200 mL de etanol 77%. Após 1 semana o extrato foi filtrado e completado o volume para 250 mL em uma proveta, em seguida armazenado em frasco âmbar em temperatura ambiente.

Extrato com propilenoglicol: a extração foi realizada com 50g da beterraba *in natura*, e adicionado 200 mL de propilenoglicol. Após 1 semana o extrato foi filtrado e completado o volume para 250 mL em uma proveta, em seguida armazenado em frasco âmbar em temperatura ambiente.

2.2.1 DETERMINAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS

Para o doseamento dos compostos fenólicos foi utilizado o método de Folin Ciocalteu. A reação forma um cromóforo azul constituído por um complexo fosfotúngstico-fosfomolibdênio onde a absorção máxima dos cromóforos depende da solução alcalina e a concentração de compostos fenólicos. Este método é muito sensível e preciso ⁽⁹⁾. Uma curva padrão foi preparada com uma solução de ácido gálico utilizando concentrações entre 25 a 600 µg/mL. O ensaio foi realizado em triplicata para cada extrato. Para cada tubo foi adicionado 3,6 mL de água destilada; 200 µL do reativo de Folin Ciocalteu, 160 µL de cada extrato. A seguir, os tubos foram agitados e deixados em repouso durante 3 minutos. Após, foram adicionados

0,4 mL de solução de carbonato de sódio a 35% (m/v) e 160 µL de etanol 70%. Para o branco foram adicionados todos os reagentes, trocando o extrato pelo líquido extrator correspondente. Os tubos foram novamente agitados e deixados em repouso durante 60 minutos. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 760 nm. Com os resultados das absorvâncias, os dados foram analisados ⁽¹⁰⁾.

2.2.2 DETERMINAÇÃO DOS TEORES DE FLAVONOIDES

O teor de flavonoides foi determinado segundo Alves & Kubota ⁽¹¹⁾, sendo utilizado 2 mL de cloreto de alumínio a 2% (m/v) no qual foram misturados com igual volume da solução dos extratos. Foi realizada a leitura em 425 nm, em um espectrofotômetro para obtenção das absorvâncias, utilizando como branco 2 mL de cloreto de alumínio e 2 mL de água destilada. Os ensaios foram realizados em triplicata para cada amostra.

2.2.3 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

A determinação da atividade antioxidante foi realizada pelo método do complexo fosfomolibdênico. O potencial antioxidante pelo método de redução do complexo fosfomolibdênico, avalia a capacidade antioxidante total de uma mistura complexa de compostos, tanto de componentes lipofílicos quanto de hidrofílicos. O complexo fosfomolibdênico foi formado pela reação da solução de fosfato trissódico (14mL, 0,1 mol/L) com solução de molibdato de amônio (6mL, 0,03 mol/L) e solução de ácido sulfúrico (10mL, 3 mol/L), em meio aquoso, sendo o volume final, ajustado com água destilada para 50mL. Foi adicionado 0,3 mL de cada extrato para um tubo de ensaio e adicionado 1mL de solução reagente do complexo fosfomolibdênico e 1,5 mL de água destilada. Este procedimento foi realizado em triplicata. Os tubos foram mantidos em banho-maria a 95 °C por 90 minutos. Após o resfriamento dos tubos foi feita a leitura em 695 nm, em um espectrofotômetro para obtenção das absorvâncias, utilizando água como branco. A capacidade antioxidante das amostras é expressa em relação a vitamina C (200 µg/mL) cuja atividade antioxidante de referência será considerada 100% ⁽¹²⁾.

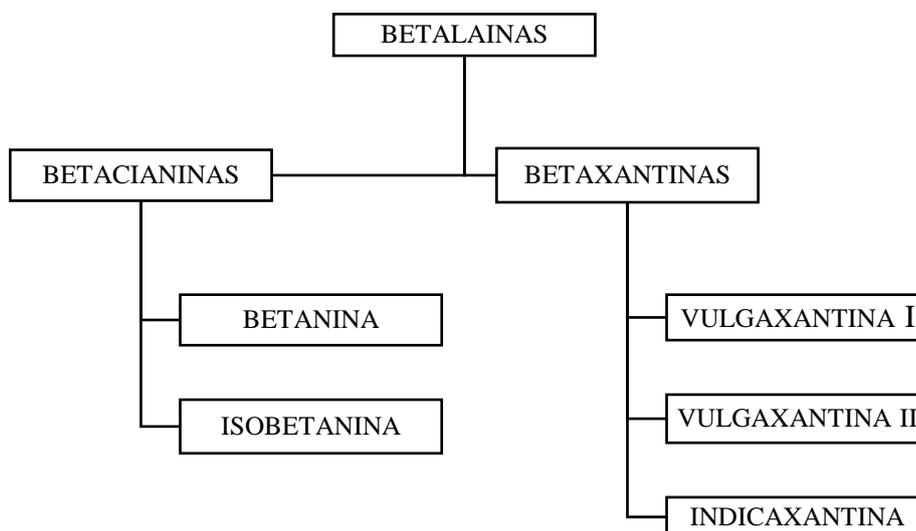
2.2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados das análises de determinação de compostos fenólicos, flavonoides totais e atividade antioxidante correspondem à média de três repetições. Utilizando o programa Sisvar, foram comparadas por análise de variância (ANOVA) seguida do teste de Tukey para verificar as diferenças significativas entre as amostras, sendo consideradas expressivas as médias no nível de 5% ($p < 0,05$) ⁽¹³⁾.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A beterraba é uma fonte rica em compostos fitoquímicos, que inclui ácido ascórbico, carotenóides, ácidos fenólicos e flavonoides. Também é um dos poucos vegetais que contém um grupo de pigmentos altamente bioativos conhecidos como betalaínas, sendo considerada o produto alimentar mais importante que contém esse pigmento. As betalainas são subdivididas em: betacianinas que incluem a betanina e a isobetanina e o grupo das betaxantinas que incluem a vulgaxantina I, vulgaxantina II e a indicaxantina ⁽¹⁴⁾ (Fluxograma 1). Uma série de estudos relatam que as betalaínas têm alta capacidade antioxidante e anti-inflamatória. Isso despertou o interesse em um possível papel da beterraba em patologias clínicas caracterizadas por estresse oxidativo ⁽¹⁵⁾.

Fluxograma 1: Subdivisão das betalainas.

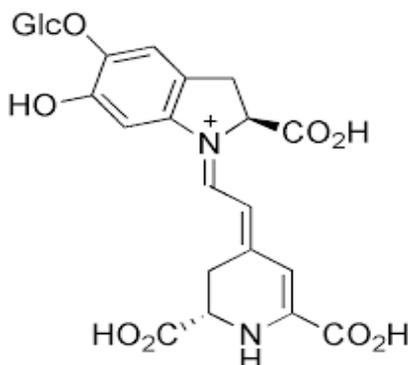


Fonte: O autor (2021).

As betalainas presentes na beterraba são um pigmento nitrogenado, solúvel em água e sintetizados a partir do aminoácido tirosina, são estáveis em uma faixa de pH de 3,0 - 7,0 e possuem baixa estabilidade térmica ⁽¹⁶⁾. As betacianinas apresentam uma coloração vermelho-violeta e as betaxantinas uma coloração amarelo-laranja. O ácido betalâmico é o cromóforo comum a todos os pigmentos da betalaína. A natureza do resíduo de adição de ácido betalâmico determina a classificação do pigmento como betacianina ou betaxantina. Já foram descobertos mais de 50 betacianinas sendo que a mais importante é a betanina (5-O-β-glucosídeo) que é responsável pela cor da beterraba e tem sido usada como um corante natural na indústria alimentícia moderna ⁽¹⁷⁾. A betanina é um dos compostos fenólicos mais importante presente na beterraba, estudos demonstram que as betaninas possuem atividade antioxidante,

antimicrobiana e antiviral ⁽¹⁸⁾ (Figura 1). A alta atividade antioxidante da betanina foi associada ao aumento de sua capacidade de doação de elétrons ⁽¹⁹⁾.

Figura 1: Estrutura química da betanina.



Fonte: Adaptado de Schiozer e Barata (2013) ⁽²⁰⁾.

A Tabela 1 apresenta os teores dos compostos fenólicos, flavonoides e atividade antioxidante, determinados nas amostras dos extratos de beterraba.

Tabela 1 – Quantificação de compostos fenólicos, flavonoides e atividade antioxidante em diferentes extratos de beterraba.

Extratos de beterraba	Compostos fenólicos µg/mL Média ±DP	Flavonoides µg/mL Média ±DP	Antioxidante Complexo Fosfomolibdênico % Média ±DP
Aquoso	457,45 ± 33,00 b	45,51 ± 0,68 b	83,56 ± 2,23 b
Etanol 77%	299,97 ± 37,49 a	46,92 ± 0,43 b	50,19 ± 2,41 a
Propilenoglicol	386,37 ± 9,79 b	42,76 ± 0,81 a	77,53 ± 3,95 b

Legenda: DP = desvio padrão

Letras diferentes na mesma coluna indicam resultados estatisticamente diferentes e letras iguais indicam resultados estatisticamente iguais.

Fonte: autor (2021).

A equação da reta para compostos fenólicos utilizada foi $y=0,0049x - 0,029$. Os valores da absorbância dos compostos fenólicos encontrados no presente estudo foram entre 299,97 a 457,45 µg/mL.

O consumo de frutas e vegetais, ricas em compostos fenólicos, tem sido associado a dietas saudáveis e à prevenção de diversas doenças crônicas devido às propriedades antioxidantes ⁽²¹⁾. Os compostos fenólicos são metabólitos secundários bioativos amplamente distribuídos, agem como antioxidantes pela sua habilidade em doar hidrogênio ou elétrons e

também em virtude de seus radicais intermediários estáveis, que impedem a oxidação de vários ingredientes dos alimentos. Eles têm um papel na inibição do crescimento de patógenos e na decomposição de microrganismos ⁽²²⁾.

Na extração dos fenólicos o extrato que apresentou a maior concentração foi o aquoso, e o que apresentou a menor concentração foi o etanol 77%, isso pode ser justificado devido à natureza polar da ligação O – H do grupo fenol que resulta na formação de ligações de hidrogênio com outras moléculas de fenol ou outros sistemas de ligação H, e implica uma alta solubilidade em água ⁽²³⁾. A beterraba contém uma grande quantidade de compostos fenólicos, como: as betaninas, ácido clorogênico, ácido caféico, ácido ferúlico, ácido cinâmico e ácido p-cumárico ⁽¹⁷⁾.

Uma maior concentração de compostos fenólicos acaba ocasionando uma maior atividade antioxidante. A diferença da quantificação demonstrada nos resultados em relação ao etanol, deve-se ao fato de que o mesmo é uma molécula anfifílica e extrai tanto substâncias com caráter apolar quanto polar ⁽²⁴⁾.

A equação da reta para os flavonoides utilizada foi $y = 0,043x - 0,0825$. Os valores de absorvância dos flavonóides encontrados no presente estudo foram entre 42,76 a 46,92 $\mu\text{g/mL}$.

Os flavonoides são uma grande classe de metabólitos secundários englobados. A sua principal propriedade é a capacidade de atuar como antioxidante ⁽²⁵⁾. Com isso geram diferentes efeitos, sendo eles: antiateroscleróticos; antitumorais, anti-inflamatórios, antitrombogênicos; antiosteoporóticos e antivirais ⁽²⁶⁾. Na extração dos flavonoides os extratos que apresentaram as maiores concentrações foram o etanol 77% e o aquoso. Dentre os flavonoides presentes na beterraba citados na literatura estão: a quercetina, quercetina 3-O-glicosídeo, miricetina, luteolina, epicatequina, apigenina e kaempferol ⁽²⁷⁾⁽²⁸⁾⁽¹⁹⁾.

Existem diversos fatores que influenciam em um processo extrativo, como a parte do material utilizado, a origem deste, o grau de processamento, o tamanho da partícula, o solvente utilizado, o tempo de extração, temperatura, polaridade e concentração do solvente ⁽¹¹⁾.

As betalainas são pigmentos hidrossolúveis, sendo melhor dissolvidos em água. No entanto, as mesmas apresentam menor solubilidade em álcoois polares. As betacianinas são consideravelmente mais estáveis que as betaxantinas, tanto em temperatura ambiente, quanto após aquecimento. Enzimas como a polifenoloxidase (PPO) e peroxidase (POD), estão entre as principais enzimas oxidativas presentes na beterraba vermelha, sendo que suas ações predisõem a degradação e/ou oxidação dos pigmentos ⁽²⁹⁾.

As betalainas e compostos fenólicos se degradam rapidamente devido à sua alta reatividade sob diferentes condições, tais como temperatura, pH, luz e oxigênio ⁽³⁰⁾. Assim, a

fraca estabilidade de betalaínas e compostos fenólicos é um desafio na extração, processamento e armazenamento do extrato de beterraba ⁽³¹⁾.

No presente estudo foi verificado que o extrato etanólico mudou de cor após 2 semanas, ficando com uma coloração amarelada, sendo que os outros extratos permaneceram com uma coloração avermelhada. Isso pode ser justificado, pois as betacianinas precipitam em meio ácido, e resultam nas betaxantinas, mediante adição de solução etanólica. Dependendo do tempo e da estabilidade, os extratos de beterrabas podem ter uma mudança de cor, isso se deve provavelmente à presença das betaxantinas da beterraba, por ser mais suscetível à degradação que a betanina. O ácido betalâmico é sensível a altas temperaturas e pode precipitar, tornando-se indisponível para a reação de regeneração ⁽²⁰⁾.

No presente estudo, os extratos de beterraba apresentaram atividade antioxidante entre 50,19 % a 83,56 %, obtidas por meio do método de redução do complexo fosfomolibdênico.

As espécies reativas de oxigênio (ERO's) são derivadas de processos metabólicos essenciais do corpo humano ou de fontes externas, como exposição a raios x, ozônio, tabagismo, poluição ambiental, produtos químicos industriais, entre outros. A formação das mesmas ocorre continuamente nas células como consequência de reações enzimáticas e não enzimáticas. As reações enzimáticas, que servem como fonte de radicais livres incluem aquelas envolvidas na cadeia respiratória, na fagocitose, na síntese de prostaglandinas e no sistema do citocromo P-450. Os radicais livres também podem ser formados em reações não enzimáticas de oxigênio com compostos orgânicos, bem como aquelas iniciadas por reações ionizantes ⁽³²⁾. A alta capacidade antioxidante confere as propriedades nutracêuticas às betalaínas ⁽²⁹⁾.

Melo e Faria (2014)⁽³³⁾, determinaram a atividade antioxidante de amostras de partes convencionalmente não comestíveis (talos e folhas) de hortaliças, dentre elas, estavam presentes a beterraba, brócolis, rabanete, couve, cenoura e repolho. A atividade antioxidante foi realizada pelo método DPPH, as absorbâncias foram lidas em comprimento de onda de 517 nm. O cálculo da atividade antioxidante relativa (AA) foi obtido pela equação $AA \% = [Aa - (Ab - Ac)]/Aa \times 100$. Os resultados obtidos em porcentagem foram de $51,95 \pm 4,92$ para o brócolis; de $44,59 \pm 4,47$ para a beterraba; de $29,06 \pm 1,11$ para o rabanete; de $19,87 \pm 0,77$ para a couve; de $17,99 \pm 0,29$ para a cenoura e de $15,53 \pm 10,03$ para o repolho. Das partes comestíveis não convencionais de rabanete, couve, cenoura e repolho, não houve diferença significativa entre as mesmas, comparados com o brócolis e a beterraba que demonstraram um valor superior.

Tiveron (2010)⁽³⁴⁾, realizou estudos sobre a atividade antioxidante e composição fenólica de alguns legumes e verduras no Brasil. A atividade antioxidante foi realizada pelo método da atividade sequestrante do radical livre DPPH, as absorbâncias foram lidas em

comprimento de onda de 517 nm. As concentrações utilizadas foram calculadas a partir do extrato bruto 5% (1g da hortalíça/20mL do solvente). Extratos etanólicos foram utilizados em todas as análises. Das amostras com fator de diluição menor 1:5, as que apresentaram as melhores atividades antioxidantes foram rúcula (86%), beterraba (85,1%) e salsa (78,4%). Os teores de compostos fenólicos nos extratos foram obtidos pelo método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu, as absorvâncias foram lidas em comprimento de onda de 740 nm. Os resultados foram expressos em (mg/g) da rúcula $9,8 \pm 0,42$, beterraba $2,9 \pm 0,2$ e salsa $7,0 \pm 0,15$.

Ninfali e Angelino (2013)⁽⁶⁾, realizaram estudos com as raízes e as folhas de beterraba. Os resultados obtidos para as folhas da beterraba foram: fenólicos $12,76 \pm 0,76$ mg/g; flavonóides $11,64 \pm 0,81$ mg/g e capacidade de absorção de radicais de oxigênio (ORAC) $200,3 \pm 11,2$ $\mu\text{molTE/g}$. Das raízes da beterraba os resultados obtidos foram: fenólicos $1,77 \pm 0,08$ mg/g; flavonoides $11,44 \pm 0,15$ mg/g e ORAC $18,21 \pm 0,86$ $\mu\text{molTE/g}$. Em comparação às raízes, as folhas de beterraba apresentaram uma maior concentração de fenólicos, de flavanóides e maior capacidade antioxidante total.

Atualmente existe um grande interesse no estudo dos antioxidantes, em particular devido à descoberta dos efeitos nocivos das ERO's para o organismo. Uma fonte rica de antioxidantes naturais são as plantas, principalmente, vegetais e frutas que são alguns componentes de uma alimentação diária. Há um aumento no consumo desses alimentos, o qual está associado a uma redução na incidência de doenças crônicas⁽³⁵⁾.

Rocha, Fávaro-Trindade e Grosso (2012)⁽³⁶⁾, relataram que o encapsulamento é uma alternativa viável para aumentar a estabilidade das betalaínas após sua extração, mantendo suas propriedades bioativas. Tal processo consiste, basicamente, em um empacotamento de partículas por uma membrana que, por sua vez, as isola e as protege do meio externo, e que vem sendo empregada com êxito em diversos setores das indústrias, não só alimentícia como também farmacêutica e de cosmético.

Celli e Brooks (2017)⁽³⁷⁾, afirmam que o uso de betalaínas como pigmento em alimentos traz grandes benefícios à saúde devido às suas propriedades antioxidantes, mas que a substituição dos corantes sintéticos pelos naturais ainda é desafiadora. Sendo a beterraba a fonte mais utilizada para a obtenção de betalaínas.

CONCLUSÃO

Os extratos das raízes de beterraba (*Beta vulgaris rubra*) apresentaram resultados significativos com os testes realizados, destacando o solvente aquoso. Os teores fenólicos apresentaram correlação positiva com a capacidade antioxidante analisada. No entanto, essa correlação não foi tão observada ao examinar os teores de flavonoides. Os resultados indicam perspectivas promissoras para a exploração de hortaliças que apresentam níveis consideráveis de capacidade antioxidante e compostos bioativos. As partes comestíveis não convencionais da beterraba, tanto a folha como o talo, são fontes alternativas de nutrientes, minerais e sugere-se estudos posteriores quanto a isso. Pode-se afirmar que os antioxidantes naturais são uma estratégia para a prevenção do fotoenvelhecimento e do estresse oxidativo diretamente relacionado com algumas doenças. Este estudo também reforça que os extratos naturais podem ser de grande interesse nas indústrias farmacêutica, cosmética e, especialmente, na indústria alimentícia, pois podem ser utilizados como substitutos de antioxidantes sintéticos, visando a sustentabilidade e proporcionando proteção contra a degradação oxidativa pelas ERO's.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Carrillo C, Rey R, Hendrickx M, del Mar Cavia M, Alonso-Torre S. Antioxidant Capacity of Beetroot: Traditional vs Novel Approaches. *Plant Foods Hum Nutr.* 2017;72(3):266–73.
2. Azeredo HMC. Betalains: Properties, sources, applications, and stability - A review. *Int J Food Sci Technol.* 2009;44(12):2365–76.
3. Guldiken B, Toydemir G, Nur Memis K, Okur S, Boyacioglu D, Capanoglu E. Home-processed red beetroot (*Beta vulgaris L.*) products: Changes in antioxidant properties and bioaccessibility. *Int J Mol Sci.* 2016;17(6).
4. Gonçalves LCP, Marcato AC, Rodrigues ACB, Pagano APE, De Freitas BC, De Machado CO, et al. Betalains: From the colors of beetroots to the fluorescence of flowers. *Rev Virtual Quim.* 2015;7(1):292–309.
5. Mikołajczyk-Bator K, Błaszczuk A, Czyżniejewski M, Kachlicki P. Characterisation and identification of triterpene saponins in the roots of red beets (*Beta vulgaris L.*) using two HPLC-MS systems. *Food Chem.* 2016;192(June):979–90.
6. Ninfali P, Angelino D. Nutritional and functional potential of *Beta vulgaris* cicla and rubra. *Fitoterapia* [Internet]. 2013;89(1):188–99. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fitote.2013.06.004>
7. Mirmiran P, Houshialsadat Z, Gaeini Z, Bahadoran Z, Azizi F. Functional properties of beetroot (*Beta vulgaris*) in management of cardio-metabolic diseases. *Nutr Metab.* 2020;17(1):1–15.

8. Marques TR, Caetano AA, Rodrigues LMA, Simão AA, Machado GHA, Corrêa AD. Caracterização dos compostos fenólicos, potencial antioxidante e antibacteriano do extrato de farinha de bagaço de acerola. *Acta Sci - Technol.* 2017;39(2):143–8.
9. Hudz N, Yezerska O, Shanaida M, Sedláčková VH, Wieczorek PP. Application of the Folin-Ciocalteu method to the evaluation of *Salvia sclarea* extracts. *Pharmacia.* 2019;66(4):209–15.
10. Lima CP, Cunico MM, Miyazaki CMS, Miguel OG, Côcco LC, Yamamoto CI, et al. Conteúdo polifenólico e atividade antioxidante dos frutos da palmeira Juçara (*Euterpe edulis* Martius). *Rev Bras Plantas Med.* 2012;14(2):321–6.
11. Alves E, Kubota EH. Conteúdo De Fenólicos, Flavonoides Totais E Atividade Antioxidante De Amostras De Própolis Comerciais. *Rev Ciencias Farm Basica e Apl.* 2013;34(1):37–41.
12. Oliveira VB, Zuchetto M, Oliveira CF, Paula CS, Duarte AFS, Miguel MD, et al. Efeito de diferentes técnicas extrativas no rendimento, atividade antioxidante, doseamentos totais e no perfil por classe de *Dicksonia sellowiana* (Presl.). *Hook, dicksoniaceae.* *Rev Bras Plantas Med.* 2016;18(1):230–9.
13. FERREIRA DF. Sisvar: a Computer Analysis System To Fixed Effects Split Plot Type Designs. *Rev Bras Biometria.* 2019;37(4):529.
14. Clifford T, Howatson G, West DJ, Stevenson EJ. The potential benefits of red beetroot supplementation in health and disease. *Nutrients.* 2015;7(4):2801–22.
15. Koubaier HBH, Snoussi A, Essaidi I, Chaabouni MM, Thonart P, Bouzouita N. Betalain and phenolic compositions, antioxidant activity of Tunisian red beet (*Beta vulgaris* L. conditiva) roots and stems extracts. *Int J Food Prop [Internet].* 2014;17(9):1934–45. Available from: <http://dx.doi.org/10.1080/10942912.2013.772196>
16. Cardoso-Ugarte GA, Sosa-Morales ME, Ballard T, Liceaga A, San Martín-González MF. Microwave-assisted extraction of betalains from red beet (*Beta vulgaris*). *LWT - Food Sci Technol [Internet].* 2014;59(1):276–82. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2014.05.025>
17. Saani M, Lawrence R. Evaluation of Pigments As Antioxidant and Antibacterial Agents From Beta. *Int J Curr Pharm Res.* 2017;9(3):37–41.
18. Sturzoiu A, Stroescu M, Stoica A, Dobre T. Betanine extraction from *Beta vulgaris* - Experimental research and statistical modeling. *UPB Sci Bull Ser B Chem Mater Sci.* 2011;73(1):145–56.
19. Georgiev VG, Weber J, Kneschke EM, Denev PN, Bley T, Pavlov AI. 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 Hum Nutr.* 2010;65(2):105–11.
20. Schiozer AL, Barata LES. Estabilidade de Corantes e Pigmentos de Origem Vegetal Stability of Natural Pigments and Dyes. *Rev Fitos [Internet].* 2013;3:6–24. Available from: <http://www.revistafitos.far.fiocruz.br/index.php/revista-fitos/article/view/71>
21. De Oliveira LDL, De Carvalho MV, Melo L. Health promoting and sensory properties of phenolic compounds in food. *Rev Ceres.* 2014;61:764–79.

22. Singh B, Singh JP, Kaur A, Singh N. Phenolic composition and antioxidant potential of grain legume seeds: A review. *Food Res Int* [Internet]. 2017;101(October):1–16. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2017.09.026>
23. Slimen IB, Najar T, Abderrabba M. Chemical and antioxidant properties of betalains. *J Agric Food Chem*. 2017;65(4):675–89.
24. Karabegović IT, Stojičević SS, Veličković DT, Todorović ZB, Nikolić NČ, Lazić ML. The effect of different extraction techniques on the composition and antioxidant activity of cherry laurel (*Prunus laurocerasus*) leaf and fruit extracts. *Ind Crops Prod*. 2014;54:142–8.
25. Agati G, Azzarello E, Pollastri S, Tattini M. Flavonoids as antioxidants in plants: Location and functional significance. *Plant Sci* [Internet]. 2012;196:67–76. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.plantsci.2012.07.014>
26. Nijveldt RJ, Van Nood E, Van Hoorn DEC, Boelens PG, Van Norren K, Van Leeuwen PAM. Flavonoids: A review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am J Clin Nutr*. 2001;74(4):418–25.
27. Wruss J, Waldenberger G, Huemer S, Uygun P, Lanzerstorfer P, Müller U, et al. Compositional characteristics of commercial beetroot products and beetroot juice prepared from seven beetroot varieties grown in Upper Austria. *J Food Compos Anal*. 2015;42(3):46–55.
28. Kazimierczak R, Hallmann E, Lipowski J, Drela N, Kowalik A, Püssa T, et al. Beetroot (*Beta vulgaris* L.) and naturally fermented beetroot juices from organic and conventional production: Metabolomics, antioxidant levels and anticancer activity. *J Sci Food Agric*. 2014;94(13):2618–29.
29. Kluge RA, Preczenhak AP. Betalaínas Em Beterraba Minimamente Processada: Perdas E Formas De Preservação. *Rev Iberoam Tecnol Postcosecha* [Internet]. 2016;(March):175–92. Available from: <https://www.redalyc.org/jatsRepo/813/81349041005/html/index.html>
30. Khan MI. Stabilization of betalains: A review. *Food Chem* [Internet]. 2016;197:1280–5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.11.043>
31. Mereddy R, Chan A, Fanning K, Nirmal N, Sultanbawa Y. Betalain rich functional extract with reduced salts and nitrate content from red beetroot (*Beta vulgaris* L.) using membrane separation technology. *Food Chem* [Internet]. 2017;215:311–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.132>
32. Lobo V, Patil A, Phatak A, Chandra N. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacogn Rev*. 2010;4(8):118–26.
33. Melo CMT, Faria JV. Composição centesimal, compostos fenólicos e atividade antioxidante em partes comestíveis não convencionais de seis olerícolas. *Biosci J*. 2014;30(1):93–100.
34. Tiveron AP. Atividade antioxidante e composição fenólica de legumes e verduras consumidos no Brasil. 2010;103.
35. Ziemiańska A, Nizioł-Łukaszewska Z, Bujak T. Antioxidant Activity and Cytotoxicity of *Medicago sativa* L. Seeds and Herb Extract on Skin Cells. 2020;9:229–42.
36. Rocha GA, Fávaro-Trindade CS, Grosso CRF. Microencapsulation of lycopene by spray



- drying: Characterization, stability and application of microcapsules. Food Bioprod Process [Internet]. 2012;90(1):37–42. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fbp.2011.01.001>
37. Celli GB, Brooks MSL. Impact of extraction and processing conditions on betalains and comparison of properties with anthocyanins — A current review. Food Res Int [Internet]. 2017;100:501–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2016.08.034>