

JANAÍNA APARECIDA SOARES VALENTE

**BEBIDA A BASE DE PERMEADO ADICIONADO DE EXTRATO  
ANTOCIÂNICO DA CASCA DA JABUTICABA (*Myrciaria jaboticaba* Vell.  
*Berg*): ELABORAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2015

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade  
Federal de Viçosa – Campus Viçosa**

T

V154b  
2015

Valente, Janaína Aparecida Soares, 1990-  
Bebida a base de permeado adicionado de extrato antociânico da casca da jaboticaba(*Myrciaria jaboticaba Vell. Berg*) : elaboração e caracterização / Janaína Aparecida Soares Valente. - Viçosa, MG, 2015.

xii, 75f. : il. ; 29 cm.

Inclui apêndice.

Orientador: Edimar Aparecida Filomeno Fontes.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f.57-71.

1. Bebidas não alcoólicas. 2. Jaboticaba. 3. *Myrciaria jaboticaba*.  
4. Corantes naturais. 5. Compostos fenólicos. 6. Antocianinas.  
I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Tecnologia de Alimentos. Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. II. Título.

CDD 22. ed. 663.6

JANAÍNA APARECIDA SOARES VALENTE

**BEBIDA A BASE DE PERMEADO ADICIONADO DE EXTRATO  
ANTOCIÂNICO DA CASCA DA JABUTICABA (*Myrciaria jaboticaba* (Vell.)  
Berg): ELABORAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 19 de novembro de 2015.

---

Antônio Fernandes de Carvalho  
(Coorientador)

---

Paulo César Stringheta  
(Coorientador)

---

Érica Nascif Rufino Vireira

---

Edimar Aparecida Filomeno Fontes  
(Orientadora)



*Aos meus pais, Mônica e Luiz Carlos.*

*À minha irmã, Jéssica.*

*Ao meu namorado, Renato.*

*Todo meu agradecimento, admiração e carinho.*

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida, por estar sempre ao meu lado em todos os momentos, por ser meu alicerce e me por guiar sempre rumo às minhas conquistas. À Maria, Mãe Santíssima, pelas inúmeras vezes que me colocou no colo nos momentos de prova e aflição.

Aos meus pais, Mônica e Luiz Carlos, por nunca medirem esforços para que meus sonhos se transformassem em realidade, pelo amor incondicional, pela dedicação, pelo carinho e pelo incentivo em todos os momentos.

À minha irmã, Jéssica, e ao meu cunhado, Mário, pelo zelo, pelo carinho e pela amizade, por sempre acreditarem em mim, dando-me força mesmo estando a mais de 7.947,50 km.

Ao Renato, pela paciência, pelo amor, pela fidelidade e por ter estado sempre ao meu lado, em todos os momentos.

À minha família (vó, tios, tias, primos e primas), pelo incentivo incansável, pelas orações e pela torcida.

Às minhas irmãs de coração, Ana Carolina e Mônica. Carol, sempre amiga, conselheira, companheira de laboratório, a qual foi meu *Google* nas dúvidas e o meu sorriso nos momentos de alegria e descontração. Mônica, quem me deu suporte para aguentar os momentos difíceis, a qual mesmo a distância estava pronta para ajudar.

Ao Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais, *Campus* Rio Pomba, responsável pela minha formação.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, pela oportunidade de realizar este Curso.

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pela concessão da bolsa de estudo.

À professora Edimar Aparecida Filomeno Fontes, pela orientação e amizade, pelos conhecimentos, pelas experiências, pelos ensinamentos compartilhados e por ter acreditado no meu trabalho.

Ao meu coorientador, Professor Antônio Fernandes, pelo fornecimento do permeado, pela utilização do laboratório e pelo incentivo constante.

Ao meu coorientador, Professor Paulo César Stringheta, pela acolhida, pelos ensinamentos compartilhados, pelas sugestões para o aprimoramento deste trabalho e pela utilização do laboratório.

Ao amigo, Josemário, pela ajuda incondicional a todos os pedidos e pela paciência e amizade.

Ao estagiário, Iago, pelo apoio, pela colaboração e pelo trabalho dedicado ao meu experimento com tanto zelo e cuidado.

À Rachel Sabione, a qual com muito carinho me ensinou a fazer as análises de atividade antioxidante e fenólicos totais.

À Cristiane Cesário, funcionária do laboratório de Análise de Alimentos, por sua presteza e dedicação e por todas as conversas.

Ao Senhor Fernando, do Departamento de Zootecnia, o qual me ajudou nas análises de minerais.

Às amigas do laboratório de frutas e hortaliças, Marcela, Ariana, Daniele, Patrícia, Carolina e Aline, as quais nunca mediram esforços para me ajudar.

À empresa Duas Rodas Industrial, pelo fornecimento do aroma de frutas vermelhas.

Ao Kléber Picanço, por ter disponibilizado a academia Bioforma para a análise sensorial de Bebidas Isotônicas; e a todos os clientes dessa academia, os quais contribuíram de maneira educada e atenciosa.

A todos os professores e funcionários do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Viçosa, pelos ensinamentos e momentos compartilhados durante o mestrado.

A todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para minha formação e me auxiliaram na realização deste trabalho, meus mais sinceros agradecimentos.

## **BIOGRAFIA**

JANAÍNA APARECIDA SOARES VALENTE, filha de Mônica Soares Rosado Valente e Luis Carlos Valente, nasceu em 08 de outubro de 1990, em Viçosa, MG.

Iniciou seus estudos na Escola Estadual Effie Rolfs, em Viçosa, onde cursou o ensino Fundamental e o Médio, concluindo-os em dezembro de 2007.

Em março de 2009, ingressou no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sudeste de Minas Gerais (IFET), *Campus* Rio Pomba, Rio Pomba, MG, no Curso de Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Em dezembro de 2012, graduou-se em Bacharel em Ciência e Tecnologia de Alimentos por esse IFET.

Em agosto de 2013, iniciou seus estudos no Curso de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa, MG, submetendo-se à defesa da sua dissertação em novembro de 2015.

## SÚMARIO

LISTA DE TABELAS .....	vii
LISTA DE FIGURAS .....	viii
RESUMO .....	ix
ABSTRACT .....	xi
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	2
2.1. Permeado da Ultrafiltração.....	2
2.2. Casca da Jabuticaba.....	5
2.3. Antocianinas .....	5
2.3.1. Extratos da Antocianina .....	7
2.4. Antioxidantes .....	10
2.5. Compostos fenólicos .....	10
2.6. Colorimetria .....	12
2.7. Bebidas isotônicas .....	15
3. MATERIAL E MÉTODOS .....	17
3.1. Matéria-prima.....	17
3.1.1. Permeado da ultrafiltração .....	17
3.1.2. Casca de Jabuticaba.....	17
3.2. Obtenção do extrato de antocianinas da casca de jabuticaba .....	18
3.3. Elaboração da bebida .....	18
3.4. Delineamento experimental.....	19
3.5. Análises físicas e químicas.....	20
3.5.1. pH.....	20
3.5.2. Acidez titulável .....	20
3.5.3. Nitrogênio Total .....	20
3.5.4. Água .....	20
3.5.5. Resíduo Mineral Fixo (RMF).....	20
3.5.6. Sólidos solúveis totais .....	20
3.5.7. Carboidratos totais.....	21
3.5.8. Lactose .....	21
3.5.9. Determinação de minerais .....	21
3.5.10. Medida da Osmolalidade.....	22
3.5.11. Análise colorimétrica .....	22
3.5.12. Compostos fenólicos totais.....	23
3.5.13. Antocianinas totais .....	23
3.5.14. Ensaio do cátion radical ABTS .....	24
3.5.15. Ensaio do cátion radical DPPH .....	25
3.5.16. Estudo de estabilidade da bebida .....	25
3.5.16.1. Cálculo da velocidade de degradação ( $k_d$ ) .....	25
3.5.16.2. Determinação do tempo de meia-vida ( $t_{1/2}$ ) .....	26
3.6. Avaliação microbiológica da bebida .....	26
3.6.1. Mesófilos aeróbios .....	26
3.6.2. Psicrotróficos.....	26
3.6.3. Número mais provável de coliformes a 30 °C e 45 °C.....	26
3.6.4. Fungos filamentosos e leveduras.....	27
3.6.5. <i>Salmonella</i> ssp.....	27
3.7. Avaliação sensorial da bebida .....	27

3.7.1. Preparo da bebida .....	27
3.7.2. Teste de aceitabilidade .....	27
3.8. Análise estatística .....	29
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	30
4.1. Caracterização das matérias-primas .....	30
4.2. Caracterização da Bebida Isotônica .....	34
4.3. Estudo da estabilidade da bebida isotônica .....	37
4.4. Avaliação microbiologia da bebida isotônica durante estocagem .....	48
4.5.1. Teste de aceitação da bebida isotônica .....	51
4.5.2. Intenção de Compra .....	53
5. CONCLUSÃO .....	56
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	57

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Importância de minerais essenciais ao organismo humano. Adaptado de Damodaram <i>et al.</i> (2010). .....	4
<b>Tabela 2</b> - Valores médios ( $\pm$ desvio-padrão) das características físicas-químicas do permeado e do extrato concentrado da casca da jabuticaba. ....	30
<b>Tabela 3</b> - Caracterização física e química da bebida isotônica formulada com permeado da ultrafiltração de leite adicionado de extrato antociânico da casca de jabuticaba. ....	34
<b>Tabela 4</b> - Média das coordenadas de cor de amostras de bebidas estocadas em diferentes condições de luz e temperatura de armazenamento em 60 dias. ....	38
<b>Tabela 5</b> - Valores médios (desvio-padrão) da concentração de antocianinas totais, polifenóis totais e atividade antioxidante pelos radicais ABTS e DPPH em amostras de bebidas estocadas em diferentes condições de luz e temperatura de armazenamento, em 60 dias .....	46
<b>Tabela 6</b> - Estimativa dos coeficientes cinéticos para alteração na cor (valor $a^*$ e $C^*$ ) e no teor de antocianinas totais de bebidas isotônicas, em diferentes condições de armazenamento durante 60 dias .....	47
<b>Tabela 7</b> -Contagens microbiológicas de mesófilos aeróbios, fungos filamentosos e leveduras, psicrotróficos, coliformes a 35 °C e pesquisa de <i>salmonella spp.</i> em amostras de bebida isotônica	50
<b>Tabela 8</b> -Valor médio (desvio-padrão) das notas da bebida isotônica formulada com dois aromatizantes.....	52
<b>Tabela 9</b> - Índice de aceitabilidade para as diferentes formulações de bebidas isotônicas. ....	53

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Cátion flavilum: estrutura básica das antocianidinas. ....	06
<b>Figura 2</b> -Modelo de cor CIE XYZ.....	13
<b>Figura 3</b> - Modelo de cor CIELAB .....	14
<b>Figura 4</b> - Modelo de cor CIE LCH. ....	14
<b>Figura 5</b> - Escala hedônica de nove pontos para avaliar a aceitação da bebida isotônica à base de permeado de ultrafiltração de leite, apresentada aos provadores em temperatura de refrigeração. 28	
<b>Figura 6</b> - Questionário aplicado aos potenciais consumidores de bebidas isotônicas. ....	29
<b>Figura 7</b> - Bebidas estocadas nas diferentes condições após um período de 60 dias de armazenamento. Presença de luz a 4 °C (A); presença de luz a 25 °C (B); ausência de luz a 4 °C (C) e ausência de luz a 25° C (D). ....	39
<b>Figura 8</b> - Variação das coordenadas de cor de bebidas isotônicas formuladas com permeado da ultrafiltração de leite adicionado de extrato antociânico da casca da jabuticaba. ....	41
<b>Figura 9</b> - Variação da atividade antioxidante pelo radical DPPH (A) e ABTS (B) em amostras de bebidas de bebidas isotônicas armazenadas sob diferentes condições de luz e temperatura durante 60 dias .....	43
<b>Figura 10</b> - Variação de polifenóis totais (A) e das antocianinas totais (B) em amostras de bebidas isotônicas armazenadas sob diferentes condições de luz e temperaturas, durante 60 dias.....	45
<b>Figura 11</b> - Afinidade por bebidas isotônicas pelos provadores. ....	54
<b>Figura 12</b> - Resultado do teste de aceitação para a frequência com que os entrevistados consomem bebidas isotônicas.....	54
<b>Figura 13</b> - Resultado do teste de aceitação para à preferência de sabores e a expectativa do consumidor em relação a uma nova bebida isotônica. ....	55

## RESUMO

VALENTE, Janaína Aparecida Soares, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, novembro de 2015. **Bebida a base de permeado adicionado de extrato antociânico da casca da jabuticaba (*Myrciaria jaboticaba* vell. berg): elaboração e caracterização.** Orientadora: Edimar Aparecida Filomeno Fontes. Coorientadores: Antônio Fernandes de Carvalho e Paulo César Stringheta.

O permeado da ultrafiltração do leite é rico em sais minerais e vitaminas hidrossolúveis. Já a casca da jabuticaba apresenta conteúdo significativo de antocianinas e considerável atividade antioxidante. Nesse contexto, os objetivos deste trabalho foram elaborar uma bebida isotônica a partir do permeado da ultrafiltração do leite com adição de extratos antociânicos da casca da jabuticaba e avaliar a estabilidade da bebida formulada na presença e ausência de luz a 4 °C e 25 °C, por um período de 60 dias de armazenamento. Na caracterização e durante o estudo de estabilidade da bebida, foram realizadas análises microbiológicas (mesófilos aeróbios, psicrotróficos, coliformes a 30 °C e 45 °C, fungos filamentosos, leveduras e *Salmonella*), análises físicas (coordenadas de cor: L\*, a\*, b\*, C\* e h\*) e químicas (pH, ATT, SST, osmolalidade, minerais, antocianinas totais, fenólicos totais, atividade antioxidante pelos radicais ABTS e DPPH). Para obter informações acerca da aceitabilidade da bebida, efetuou-se um teste de aceitação com potenciais consumidores dessa bebida. Em relação às análises microbiológicas, a bebida não apresentou alterações nas duas temperaturas de estocagem no longo dos 60 dias avaliados. Na avaliação da osmolalidade (307,16 mOsmol·L<sup>-1</sup>) e na concentração do mineral sódio (463,24 mg L<sup>-1</sup>), evidenciou-se que a bebida se encontra dentro dos padrões de qualidade e identidade para essa categoria. Os resultados para pH, ATT, SST, potássio, cálcio, magnésio e fósforo foram, respectivamente, 3,56; 0,97%; 5,83 °Brix; 1204,06 mg L<sup>-1</sup>; 509,87 mg L<sup>-1</sup>; 162,06 mg L<sup>-1</sup>; e 352,18 mg L<sup>-1</sup>. O conteúdo de antocianinas para a bebida formulada neste estudo foi de 15,98 mg L<sup>-1</sup>; o teor de fenólicos, 267,55 mg AGE L<sup>-1</sup>; e as atividades antioxidantes pelos radicais ABTS e DPPH foram respectivamente 2,43 e 2,72 µM, equivalente de trolox mL<sup>-1</sup>. Pelas coordenadas de cor, as bebidas formuladas apresentaram tonalidades de cores claras e vivas, com um elevado valor de C\* (38,00), que tenderam ao vermelho e um ângulo h\* (29,90°). O estudo da estabilidade das bebidas revelou que o conteúdo de compostos bioativos é determinante no tempo de vida útil delas. Tanto a luz quanto a temperatura exerceram efeito na estabilidade das antocianinas, na atividade antioxidante e na cor, e a condição de refrigeração (4 °C) e ausência de luz apresentaram ser a mais eficientes no

armazenamento dessas bebidas. O teste de aceitabilidade, envolvendo 100 provadores não treinados, evidenciou que a bebida isotônica teve boa aceitação por parte do público-alvo, os quais são os praticantes de exercícios físicos, em todos os atributos (cor, sabor, aroma e impressão global), tanto para formulação com aroma de goiaba como para a de frutas vermelhas, que se situaram entre as notas 6, “gostei ligeiramente”, e 8, “gostei muito”. A intenção de compra revelou que 57% dos entrevistados gostam moderadamente de bebidas isotônicas e 35% consomem o produto pelo menos uma vez por semana. Concluiu-se que o permeado é uma excelente base para formulação de bebidas isotônicas por ser rico em sais minerais, e a utilização de corantes naturais como antocianina, além de colorir o produto, pode trazer benefícios à saúde pela presença de compostos bioativos.

## ABSTRACT

VALENTE, Janaina Aparecida Soares, MSc, Universidade Federal de Viçosa, November, 2015. **Drink the basis of permeate added anthocyanin extract from the bark of jabuticaba (*Myrciaria jabuticaba* Vell berg.): Preparation and characterization.** Advisor: Edimar Aparecida Filomeno Fontes. Co-Advisors: Antonio Fernandes de Carvalho and Paulo César Stringheta.

The permeate from milk ultrafiltration is rich in minerals and water soluble vitamins, the bark of jabuticaba presents significant content of anthocyanins and considerable antioxidant activity. In this context, this study aimed to develop isotonic drinks from the milk ultrafiltration permeate added anthocyanin extracts from the bark of jabuticaba. It also aimed to assess the stability of beverages formulated in the presence and absence of light at 4 °C and 25 °C over a period of 60 days. During the characterization and study of stability of the drinks were conducted microbiological analysis (aerobic mesophilic, psychrotrophic, 35 °C coliforms, filamentous fungi and yeast and Salmonella), physical analysis (color coordinates: L\*, a\*, b\*, C\* e h\*) and chemical analysis (pH, ATT, SST, osmolality, anthocyanins, phenolic, antioxidant activity by ABTS and DPPH). To get information about the acceptability of the drink was carried out acceptance testing with potential consumers of this drink. In microbiology aspect, the drink had no change in the two storage temperatures over the 60 days. In the evaluation of osmolality (307.16 mOsmol.L<sup>-1</sup>) and mineral sodium concentration (463.24 mg L<sup>-1</sup>) indicated that the drink is within the standards of quality and identity for this category. The results obtained for pH, ATT, SST, potassium, calcium, magnesium and phosphorus were: 3.56; 0.97%; 5.83 °Brix; 1204.06 mg L<sup>-1</sup>; 509.87 mg L<sup>-1</sup>; 162.06 mg L<sup>-1</sup>; 352.18 mg L<sup>-1</sup>. The anthocyanin content for the drink in this study was formulated 15,98 mg L<sup>-1</sup>; the phenolic content was 267,55 mg AGE L<sup>-1</sup> and the antioxidant activity by ABTS and DPPH was respectively 2.43 and 2.72 µM equivalent of trolox mL<sup>-1</sup>. Pelas coordenadas de cor, as bebidas formuladas apresentaram tonalidades de cores claras e vivas, com um elevado valor de C\* (38,00), que tenderam ao vermelho e um ângulo h\* (29,90°). According to coordinates of color, formulated drinks showed shades of light and vivid colors with a high value of C\* (38.00), which tended to turn red and a slight angle h\* (29,90°). The study of the stability of the drinks revealed that the content of bioactive compounds are determining the lifetime thereof. Both the light and the temperature have a negative effect on the stability of anthocyanins, the antioxidant activity and color, whereas the refrigeration condition (4 °C) and the absence of light proved to be the most

efficient storage of these drinks. The acceptance test, which involved 100 untrained tasters, showed that the isotonic drink was well received by its consumer target audience, the physically active in all the attributes (color, taste, flavor and overall impression) for both formulation with guava flavor and formulation with berries, the score was between grades 6 (like slightly) and e 8 (liked a lot). Market research revealed that 57% of respondents moderately like isotonic drinks and 35% consume the product at least once a week. In summary, the permeate is an excellent basis for the formulation of sports drinks due to it being rich in minerals and the use of natural dyes like anthocyanin in its formulation. The anthocyanin are interesting because they add color the product and they bring health benefits due to the presence of bioactive compounds.



## 1. INTRODUÇÃO

O segmento de bebidas isotônicas tem buscado introduzir novos sabores para atender à demanda crescente por novos produtos, isso pode ser em parte explicado pela busca por produtos mais naturais, que refletirão em uma melhor qualidade de vida. Desse modo, o emprego de matérias-primas, que agregam vantagens nutricionais e naturais na produção dessas bebidas, surge como um diferencial.

O uso de extratos de antocianinas da casca da jabuticaba em bebidas torna-se muito interessante por esses possuírem elevado teor de compostos fenólicos totais, antocianinas e atividade antioxidante, compostos que trazem benefícios à saúde. Os compostos fenólicos são: antioxidantes de ocorrência natural, incluídos na categoria de interruptores de radicais livres e eficientes na prevenção da autoxidação. As antocianinas estão entre os grupos mais importantes de pigmentos naturais extraídos das plantas, são solúveis em água e ocorrem em quase todas as plantas vasculares. A intensa coloração das antocianinas, associada à sua alta solubilidade em água e aos relatos crescentes de seus benefícios para a saúde, atrai inúmeros estudos de viabilidade do uso dessa classe de pigmentos como corantes na indústria de alimentos.

O permeado, derivado do fracionamento dos constituintes do leite, resulta em um subproduto que é composto por lactose, sais minerais, eletrólitos, compostos nitrogenados, vitaminas e água. Os minerais cálcio, potássio, sódio e magnésio são nutrientes que compõem o permeado e, como tal, podem ser aproveitados em vista de seus benefícios para a saúde humana. Esses minerais são essenciais para a alimentação humana, devendo ser ingeridos diariamente.

As bebidas isotônicas encontradas no mercado são à base de água, sais minerais e carboidratos, ideais para reposição de líquidos e eletrólitos perdidos através do suor durante atividade física. É chamado isotônico por possuírem formulação semelhante ao plasma, o que facilita a absorção. A bebida elaborada neste trabalho além de ter o benefício da hidratação, possui também os benefícios do uso de um corante natural que está associado à atividade antioxidante e aos compostos fenólicos. Além da utilização do permeado do leite, um produto natural que contém os minerais essenciais na elaboração desta bebida.

Desse modo, este trabalho teve como objetivo elaborar uma bebida à base do permeado obtido do processo de ultrafiltração do leite com adição do corante natural de

antocianina extraído da casca da jabuticaba, tendo como objetivos específicos obter e caracterizar o extrato de antocianina da casca da jabuticaba para ser utilizado como corante natural; formular e caracterizar a bebida isotônica a partir do permeado da ultrafiltração do leite com adição do corante natural extraído da casca da jabuticaba; realizar análises físicas e químicas do extrato antociânico e das bebidas isotônicas (pH, acidez total titulável, sólidos solúveis totais, osmolalidade, antocianinas, fenólicos totais, atividade antioxidante pelos radicais ABTS e DPPH e medida da cor ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*$  e  $h^*$ )); efetuar análises microbiológicas das bebidas (mesófilos aeróbios, psicrotróficos, coliformes 30 °C e 45 °C, fungos filamentosos e leveduras e *Salmonella* spp.); fazer um estudo de estabilidade das bebidas formuladas com permeado da ultrafiltração e do extrato de antocianina da casca da jabuticaba na ausência e exposição à luz e no armazenado às temperaturas de 4 °C e 25 °C durante estocagem por 60 dias; efetivar a análise sensorial do produto, empregando o teste de aceitação para avaliar o grau em que os consumidores gostam ou desgostam do produto; e avaliar a intenção de compra dos consumidores em relação à bebida isotônica.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1. Permeado da Ultrafiltração**

A ultrafiltração (UF) é um processo de separação por membranas. Esse processo é utilizado quando se deseja purificar e fracionar soluções contendo macromoléculas. A fração proteica do leite é retida pelas membranas de UF, enquanto a lactose permeia pelas membranas, constituindo o permeado (YEE et al., 2007). O transporte de massa por meio da membrana pode ser efetuado por difusão e, ou, convecção, induzido por ação de forças motrizes como gradientes de pressão, temperatura, concentração ou potencial elétrico (AFONSO; PINHO, 1998; AFONSO; PINHO, 2000; CHOLLAGI, 2009). A corrente de alimentação ao passar pelo módulo da membrana é decomposta em duas outras correntes: o retentado ou concentrado, que é a fração retida pela membrana; e o permeado, que é a fração que permeia preferencialmente pela membrana (CATARINO et al., 2013).

A separação dependerá do valor da massa molecular de corte (*Cut off*) da membrana, representado teoricamente pela massa molecular da menor molécula retida pela membrana. Nesse sentido, é importante destacar que a ultrafiltração também se caracteriza pelo uso de membranas com diâmetro de poro entre 0,007 $\mu$ m e 0,12  $\mu$ m e pressões de até 7,0 bar (BENITO, 1980).

O permeado obtido por ultrafiltração é praticamente estéril, desprovido de proteínas e gorduras, mas com grandes possibilidades de utilização. Desse permeado, pode-se fazer extração da lactose, que pode ser hidrolisada por via química ou enzimática. A hidrólise da lactose oferece à indústria de laticínios a possibilidade de valorizar o permeado dentro das indústrias de chocolates, doces e biscoitos (CONDACK,1993).

A riboflavina ou vitamina B2 é o pigmento nativo do leite, apresentando coloração amarelo-alaranjada. Esse pigmento permanece no permeado da ultrafiltração em razão do seu caráter hidrofílico e da baixa massa molar. Apesar de ser mais estável em meio ácido e possuir boa retenção nos alimentos durante processamentos térmicos convencionais, perdas da coloração podem ocorrer em atividade de água elevada, com temperaturas acima da ambiente e por degradação fotoquímica (DAMODARAN et al., 2010).

Outras vitaminas hidrossolúveis também passam pelos poros da membrana, como ácido pantotênico, biotina, ácido nicotínico e tiamina, permanecendo no permeado da ultrafiltração. Entre essas vitaminas, a biotina e os ácidos pantotênico e nicotínico são resistentes ao processo de pasteurização, que é aplicado usualmente no leite (DAMODARAN et al., 2010).

Os minerais, contendo baixa massa molecular, também permeiam a membrana, permanecendo no permeado. Cálcio, potássio, sódio, magnésio e fósforo são nutrientes que compõem o permeado e, como tal, podem ser aproveitados em vista de seus benefícios para a saúde humana. Esses minerais são essenciais para a alimentação humana, devendo ser ingeridos diariamente. Na Tabela 1, encontram-se as funções desses minerais e as fontes alimentares mais comuns.

Tabela 1- Importância de minerais essenciais ao organismo humano. Adaptado de Damodaram et al. (2010)

Mineral	Função	Fontes alimentares
Cálcio	Míneralização de ossos e dentes, coagulação do sangue, secreção de hormônios e neurotransmissor.	LEITE, iogurte, sucos fortificados e brócolis.
Magnésio	Cofator de diversas enzimas.	Vegetais verdes e folhosos e LEITE.
Sódio	Cátion predominante no líquido extracelular, controle do volume de líquido extracelular e pressão sanguínea.	Presente na maioria dos alimentos. Alimentos processados contêm níveis variáveis de sódio adicionado.
Potássio	Principal cátion no fluido intracelular auxilia a manutenção do equilíbrio hídrico e promove o crescimento muscular.	LEITE, batatas, bananas.
Fósforo	Atua na formação de dentes e ossos; faz parte das membranas celulares do organismo humano; participa do metabolismo dos glicídios; e age na contração dos músculos.	LEITE, carne bovina, castanha-do-pará, ovos e peixes.

Como o permeado é rico em macrominerais e eletrólitos, estudos se intensificaram nessa área para se utilizar o permeado, produzindo por meio dele e de outros ingredientes bebidas com elevado fator hidroeletrólítico e repositores de sais,

produto muito bem aceito pelos consumidores, principalmente por atletas (OLIVEIRA et al., 2006).

## **2.2. Casca da Jabuticaba**

A jabuticabeira é uma árvore frutífera nativa do Brasil, com casca avermelhada quase preta, polpa esbranquiçada mucilaginosa, de sabor agridoce e subácido, apresentando de uma a quatro sementes (GOMES, 1983; BARROS et al., 1996; DONADIO, 2000; BRUNINI et al., 2004; LIMA et al., 2008). O cultivo da jabuticaba é mais comum em regiões de clima subtropical, apesar de essa se adaptar também ao clima tropical, tolerar o frio e até geadas de curta duração. As duas espécies mais cultivadas de jabuticaba são: a jabuticaba Sabará (*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg) e a jabuticaba Paulista (*Myrciaria cauliflora* (DC.) Berg) (GOMES, 1983; DONADIO, 2000).

A casca e a semente são ricas em fibras insolúveis e juntas representam mais de 50% do peso do fruto. A casca possui elevado teor de fibras solúveis e é rica em minerais como o potássio, magnésio, cálcio e cobre, apresentando também elevado teor de compostos fenólicos totais; entre os fenólicos, destacam-se as antocianinas. Os compostos fenólicos são justamente aqueles que concentram grupos de antioxidantes, responsáveis principalmente pelo combate de radicais livres, agentes no processo de envelhecimento celular. As fibras, por sua vez, auxiliam no trato digestório; e as solúveis atuam na redução do colesterol e na absorção de glicose (LAGE, 2014).

Por obter um elevado conteúdo de compostos bioativos, principalmente na forma de compostos fenólicos como antocianinas, que apresentam considerável capacidade antioxidante, ficam evidenciados a importância e os benefícios que o consumo desse fruto pode proporcionar. Uma vez que os compostos se encontram na casca, a produção de corantes alimentícios a partir dela, além de cumprir sua função básica que é colorir, pode ainda trazer o benefício de suas propriedades funcionais (OLIVEIRA, 2010).

## **2.3. Antocianinas**

As antocianinas estão entre os grupos mais importantes de pigmentos naturais extraídos das plantas (HARBORNE, 1967). É um tipo de flavonoide responsável por uma variedade de cores atrativas de frutas, flores e folhas, que varia do vermelho ao

azul. São solúveis em água e ocorrem em quase todas as plantas vasculares, ou seja, plantas que apresentam tecidos especializados - o xilema e o floema - para o transporte de água e seiva (MALLMANN, 2011).

As antocianinas e antocianidinas apresentam como estrutura básica o cátion flavila (2-fenilbenzopirilium), ilustrado na Figura 1. Nas antocianinas, as posições 3, 5 e 7 contêm hidroxilas, onde uma ou mais dessas hidroxilas estão ligadas a açúcares, que, por sua vez, podem estar associados a ácidos fenólicos. Dentre os açúcares encontrados pode-se citar a raminose, arabinose, glicose, galactose e xilose. Com relação aos ácidos fenólicos, os ácidos cafeico, ferúlico, cumárico e sinápico figuram entre os identificados (BOBBIO, 1992). As antocianidinas, em contrapartida, não apresentam grupos glicosídicos em sua estrutura (MARÇO, 2008).

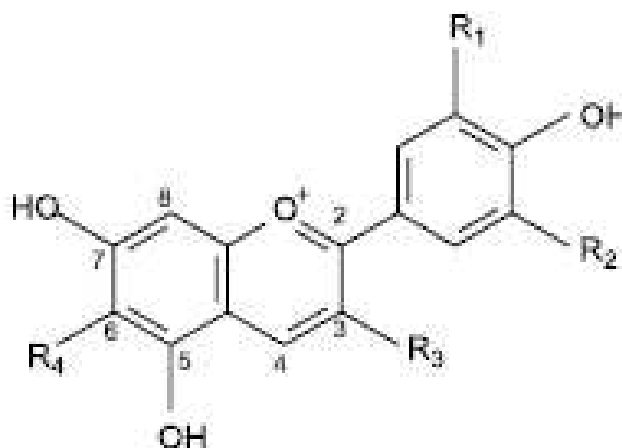


Figura 1 – Cátion flavilum: estrutura básica das antocianidinas.

A variedade de antocianinas existente na natureza e sua consequente diferenciação em tonalidades e cores resultam da combinação de alguns fatores como a quantidade e posição das hidroxilas na molécula; ocorrência de metilação em uma ou mais hidroxilas presentes; natureza, quantidade e posição dos açúcares ligados à estrutura da antocianina; e natureza e quantidade de ácidos ligados a esses açúcares. A estrutura química básica é derivada das seis antocianidinas mais comuns: pelargonidina, cianidina, delphinidina, malvidina, peonidina e petunidina (VALSS et al., 2009).

A distinção de cores também é influenciada pelo ambiente onde a antocianina se encontra. O pH do meio, a formação de quelatos com cátions metálicos e a presença

de outros pigmentos podem levar à alteração dessa característica em uma mesma molécula (TERCI et al., 2002; CASTAÑEDA-OVANDO et al., 2009; BUCHEWEITZ, et al., 2012).

A intensa coloração das antocianinas associada à sua alta solubilidade em água e aos relatos crescentes de seus benefícios para a saúde atrai inúmeros estudos de viabilidade do uso dessa classe de pigmentos como corantes na indústria de alimentos. As pesquisas buscam elucidar questões importantes, como a disponibilidade do material vegetal, a extração e o isolamento desses pigmentos, assim como a sua estabilização. No que se diz respeito particularmente ao último ponto, as investigações incluem avaliação do efeito do pH, da temperatura e da presença de copigmentos na estabilidade das antocianinas (LOPES et al., 2007; PATIAS. et al., 2010; CAVALCANTI et al., 2011). Esses pigmentos podem ainda sofrer alteração de cor, decorrente de reações químicas que podem ocorrer ao longo da preparação ou do processamento do alimento (HAMERSKI, L. et al., 2013).

Extratos ricos em antocianinas são comercializados na forma de concentrado líquido ou em pó e são obtidos, por exemplo, a partir de casca de uva, groselha, cenoura, repolho, milho roxo, jabuticaba, entre outros. Os extratos são aplicados em diversos produtos, incluindo doces, geleias, laticínios, refrigerantes, isotônicos, bebidas alcoólicas etc. (WROLSTAD, 2004; ESCRIBANO-BAILÓN et al., 2004; PRODANOV et al., 2005).

### **2.3.1. Extratos da Antocianina**

Antocianinas concentram-se nos vacúolos das células vegetais (AGATI et al., 2007). Geralmente, quando as frutas apresentam casca removível, como as uvas e jabuticabas, essas se concentram nos vacúolos celulares das cascas. Já em frutas com características semelhantes às das amoras, esses compostos encontram-se em toda a polpa (CHAOVANALIKIT; WROLSTAD, 2004; AGATI et al., 2007; HUGHES et al., 2007).

A escolha de um método para extrair antocianinas depende, em grande parte, do propósito de extração e também da natureza dos constituintes das moléculas de antocianinas. Entretanto, quando os pigmentos forem usados como corantes de alimentos, o rendimento máximo obtido, a força tintorial e a estabilidade são itens de maior relevância (JACKMAM; SMITH, 1996).

As antocianinas são solúveis em água e podem ser facilmente extraídas com solventes polares. Solventes alcoólicos, como metanol e etanol, são os mais utilizados (LEE; HONG, 1992; REVILLA et al., 1998; STINTZING et al., 2002; GIUSTI; WROLSTAD, 2003; TERCI, 2004; CHEN et al., 2006).

O meio ácido também faz com que as antocianinas encontrem-se predominantemente na forma de cátion flavilium, que apresenta coloração vermelha em solução aquosa (REVILLA et al., 1998). O fato de o cátion flavilium ser estável em meio ácido torna indicável a utilização de solventes contendo ácidos orgânicos ou minerais na extração de antocianinas de frutas, como ácidos clorídrico, fórmico e acético. No entanto, o uso de solventes ácidos para extrair antocianinas deve ser cauteloso, pois o excesso de ácido pode levar à formação de antocianidinas e outros flavonoides por hidrólise (CIPRIANO, 2011).

Apesar da toxidez, solventes como metanol e acetona são muito utilizados para a extração de antocianinas (NICOUÉ et al., 2007; KIM et al., 2004). Porém, para algumas aplicações do extrato, como para as indústrias cosmética, farmacêutica e alimentícia, o uso desses solventes tem restrições, não só pela toxicidade como também pelo custo elevado e impacto ambiental dos resíduos (GARCIaviguera et al., 1998). Diante das limitações de uso desses solventes, a extração com etanol ou água é recomendada especialmente quando a extração se faz com fim alimentício. Entretanto, o emprego desses solventes também possui limitações de uso como menor eficiência de extração em comparação aos outros solventes, além de menor durabilidade de seus extratos (NICOUÉ et al., 2007; TERCI, 2004).

Um fator que influencia na quantidade de antocianinas extraída é a temperatura de extração. Elevar a temperatura de extração facilita a liberação das antocianinas dos vacúolos celulares das frutas, além de aumentar a permeabilidade do solvente nas estruturas celulares, elevando assim a quantidade de antocianinas extraída e reduzindo o tempo de extração (JU; HOWAR et al., 2005). No entanto, o aumento da temperatura não deve exceder a 60 °C, pois acentua a degradação posterior dos extratos de antocianinas, recomendando-se, assim, que a extração ocorra entre 25 °C e 55 °C (AURELIO et al., 2008; JU; HOWAR et al., 2005; TERCI, 2004). Os extratos de antocianinas obtidos a partir de frutas e flores são quase sempre encontrados como uma mistura de antocianinas, e também podem conter clorofilas e pigmentos pertencentes ao grupo de carotenoides. Dessa forma, muitas vezes, é necessário purificar, isolar e identificar os pigmentos que compõem os extratos brutos (HARBONE et al., 1975).

Usualmente, após a extração das antocianinas, os extratos brutos são concentrados, utilizando evaporadores rotativos a vácuo e em temperaturas inferiores a 40 °C, até massa constante (TERCI, 2004; PAZMINO-DURÁN et al., 2001), resultando em um resíduo viscoso.

As antocianinas são compostos pouco estáveis. Segundo Francis (1989), os principais fatores que influenciam a estabilidade das antocianinas são a estrutura química, o pH, a temperatura, a luz, a presença de oxigênio, a degradação enzimática e as interações entre os componentes dos alimentos, como ácido ascórbico, íons metálicos, açúcares e copigmentos. O grau de hidroxilação exerce importante efeito na estabilidade das antocianinas, e aquelas que contêm mais grupos hidroxilas em sua estrutura são menos estáveis. Inversamente, elevado grau de metoxilação aumenta a estabilidade das antocianinas (FRANCIS, 1989). Além disso, antocianinas são geralmente instáveis quando expostas à luz ultravioleta e visível (IACOBUCCI; SWEENY, 1983).

A degradação das antocianinas ocorre por vários mecanismos, podendo ocorrer durante o processamento e a estocagem de alimentos, levando à formação de produtos de escurecimento insolúveis ou de produtos solúveis incolores (GEOCZE, 2007).

As antocianidinas são menos estáveis do que as antocianinas. A cianidina-3-glicosídeo, por exemplo, apresenta tempo de meia-vida em solução de ácido cítrico 0,01Mol·L<sup>-1</sup> (pH 2,8) de 65 dias, enquanto sua aglicona livre alcança apenas 12 h nas mesmas condições (IACOBUCCI; SWEENY, 1983).

O pH exerce profunda influência na cor das antocianinas, assim como na sua estabilidade, em razão do equilíbrio ácido-base das diversas espécies (SAMPAIO, 2008). Cada uma dessas estruturas apresenta absorção característica na região do espectro visível (BROUILLARD; DUBOIS, 1977). As modificações estruturais das antocianinas em água são por causa da alta reatividade da aglicona (CONSTANT et al., 2002). Em pH entre 1 e 2, as soluções antocianinas apresentam coloração avermelhada intensa, característica do cátion flavilium (BORDIGNON et al., 2009).

Elevando-se o pH, em torno de 6, essas tornam-se incolores em razão da hidratação do cátion flavilium, com formação da estrutura carbinol. Com o aumento do pH, anidrobases são formadas e a coloração tende à violeta (pH entre 6,5 e 8) e ao azul (pH entre 9 e 12). Em meio fortemente alcalino, pHs 13 e 14, há ruptura do anel heterocíclico, formando-se chalconas, que conferem coloração amarela à solução,

podendo-se precipitar, o que torna o processo irreversível (HARBONE, 1994; BROUILLARD; DUBOIS, 1977; TERCI; ROSSI, 2002).

#### **2.4. Antioxidantes**

Os antioxidantes são substâncias que retardam ou inibem a oxidação de um substrato de maneira eficaz. Geralmente, estão presentes em baixas concentrações em relação à concentração do substrato. Podem ser classificados em antioxidantes enzimáticos, que são capazes de interagir com as enzimas que removem as espécies reativas ao oxigênio; e não enzimáticos, que interagem com as espécies radiculares e são consumidos durante a reação (MOREIRA; MANCINI-FILHO, 2004).

Pela inibição das reações em cadeia com o ferro e o cobre, os antioxidantes impedem a formação de radicais livres. Eles são capazes de interceptar os radicais livres gerados pelo metabolismo celular ou por fontes exógenas, bloqueam o ataque sobre lipídios, aminoácidos, a dupla ligação dos ácidos graxos poli-insaturados e as bases do DNA, evitando a formação de lesões e perda da integridade celular, assim como reparam lesões causadas pelos radicais, removendo danos das moléculas de DNA e reconstituindo membranas celulares danificadas (HEIM et al., 2002).

As características de um bom antioxidante são: presença de substituintes doadores de elétrons ou de hidrogênio ao radical, em razão de seu potencial de redução; capacidade de deslocamento do radical formado em sua estrutura, capacidade de quelar metais de transição implicados no processo oxidativo e acesso ao local de ação, dependendo de sua hidrofília ou lipofília e de seu coeficiente de partição (MANACH et al., 2004).

Na indústria alimentícia, o uso de antioxidantes sintéticos é muito importante para manter a integridade dos produtos, preservando características sensoriais e nutricionais e prolongando a vida de prateleira dos produtos. Estudos visam a identificação de antioxidantes de fontes naturais para a aplicação em produtos alimentícios. Ao serem adicionados aos alimentos, os antioxidantes naturais protegem não somente o produto alimentício, mas também o organismo animal, visto que, ao serem ingeridos, os antioxidantes combatem radicais livres, contribuindo para a redução do risco de desenvolvimento de várias patologias (KUFNER, 2010).

#### **2.5. Compostos fenólicos**

Os compostos fenólicos são metabólitos secundários importantes na formação dos pigmentos das plantas. Possuem um ou mais grupos hidroxilas ligados ao anel aromático. Apresentam estruturas variadas sendo encontrados como ácidos fenólicos, antocianinas e taninos. As estruturas fenólicas ligam-se às proteínas e aos açúcares e fazem parte de alcaloides e terpenoides. As massas molares dessas estruturas podem ser baixas, como as dos ácidos cafeico e gálico, ou elevadas, como as dos taninos, que apresentam alto grau de polimerização. Em sua maioria, são de grande polaridade e muito reativas, além de serem suscetíveis à ação de enzimas (KING; YOUNG, 1999). Os compostos fenólicos geralmente encontrados em alimentos são ácidos fenólicos, flavonoides, estilbenos e taninos.

Os compostos fenólicos são antioxidantes de ocorrência natural. A capacidade antioxidante deles é por causa, principalmente, das suas propriedades redutoras e depende do número e da posição das hidroxilas presentes na molécula, assim como da concentração desses compostos no alimento (BROINIZI et al., 2007; MELO et al., 2008).

A eficiência do antioxidante é determinada pelos grupos funcionais presentes, pela posição no anel aromático e pelo tamanho da cadeia. Compostos fenólicos são incluídos na categoria de interruptores de radicais livres e são eficientes na prevenção da autoxidação. A ação antioxidante desses compostos tem importante papel na redução da oxidação lipídica em tecidos vegetal e animal. Quando os compostos fenólicos reagem com os radicais livres, os radicais formados são estáveis, o que impede a oxidação de vários componentes dos alimentos, particularmente ácidos graxos e óleos. Esse poder de neutralização das estruturas radiculares é em razão da sua estrutura química formada por pelo menos um anel aromático com grupamentos hidroxilas (ANGELO; JORGE, 2007; SOARES et al., 2008).

As frutas são, geralmente, mais ricas em compostos fenólicos que outros vegetais. Frequentemente, essas contêm elevado teor de antocianidinas e antocianinas. As principais fontes de compostos fenólicos são as frutas cítricas e frutas como cereja, uva, ameixa e jabuticaba. Na jabuticaba, são encontrados em maior quantidade na casca. Em geral, os compostos fenólicos são multifuncionais como antioxidantes, pois atuam combatendo radicais livres, doando um átomo de hidrogênio de um grupo hidroxila (OH) da sua estrutura aromática. A estrutura aromática é capaz de suportar um elétron desemparelhado pelo deslocamento desse ao redor de todo o sistema de elétrons da molécula; quela metais de transição como o  $Fe^{2+}$  e o  $Cu^+$ ; interrompe a reação de

propagação dos radicais livres na oxidação lipídica; modifica o potencial redox do meio; e repara as lesões de células atacadas por radicais livres (PODSEDEK, 2007).

Os compostos fenólicos também bloqueiam a ação de enzimas específicas que causam inflamação; modificam as rotas metabólicas das prostaglandinas; protegem a agregação plaquetária; e inibem a ativação de carcinógenos (VALKO et al., 2006).

Dessa forma, os compostos fenólicos atuam por mecanismos variados, dependendo da sua concentração e do tipo de composto presente no alimento, podendo existir sinergismo ou antagonismo entre os diferentes compostos (PEDRIELLI; SKIBSTED, 2002; HASSIMOTTO et al., 2005).

Os compostos fenólicos estão disponíveis nos alimentos como ácidos fenólicos, flavonoides, ligninas, estilbenos, cumarinas e taninos. Eles atuam como antioxidantes em concentrações baixas, enquanto, em elevadas concentrações, comportam-se como proantioxidantes, visto que são susceptíveis à oxidação (ROBARDS, 2003), contribuindo para reduzir o risco de doenças como catarata, câncer, aterosclerose, isquemia, alterações no sistema nervoso etc. (TEMPLE, 2000).

## **2.6. Colorimetria**

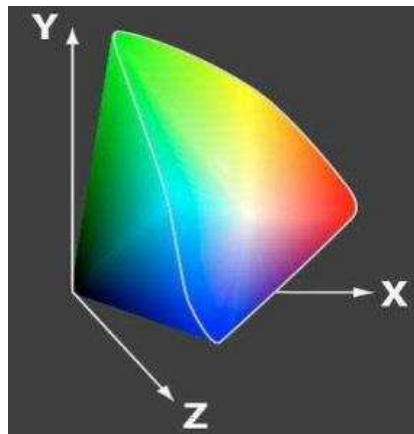
A cor é um atributo de importância fundamental no julgamento da qualidade de um alimento, uma vez que a apreciação visual é o primeiro dos sentidos a ser usado, sendo, portanto, uma característica decisiva na escolha e aceitação do produto (Lima et al., 2007). Estudos têm demonstrado que a cor, assim como o valor nutricional, determina na qualidade dos alimentos (DUZZIONI, 2009).

Todas as cores podem ser especificadas em termos da contribuição proporcional dos componentes vermelho, verde e azul do espectro visível, que equivale à cor da amostra. A combinação das três cores primárias, representadas pelos símbolos R (*red*, vermelho), G (*green*, verde) e B (*blue*, azul) resulta, portanto, na cor da amostra que pode ser caracterizada objetivamente e expressa por meio de valores numéricos e por diferentes sistemas de medida (FRANCIS; CLYDESDALE, 1975).

Em 1931, a Comissão Internacional de L'Eclairage (CIE) desenvolveu um sistema para especificar os sinais de cor, recomendando para ser utilizado em larga escala. Os três atributos da cor poderiam ser expressos como uma esfera tridimensional, manifestada numericamente por um sistema de ordens, correspondendo à cor a ser quantificada e evidenciada de maneira objetiva e precisa. Pelo princípio da síntese de cores aditivas, todas as tonalidades partem da combinação das cores primárias

(vermelho, verde e azul). Por suas características de capacidade analítica e objetividade, é muito usado para o método de análise espectral da luz refletida, reemitida ou absorvida de um objeto, que é feita com a utilização de um espectrofotômetro (BERTOLINI, 2010).

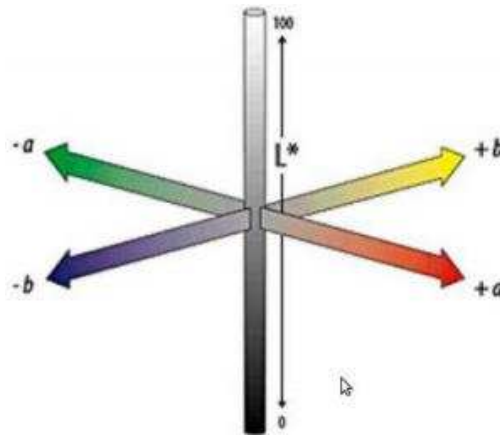
O sistema CIE (Figura 2), como é atualmente conhecido, baseia-se na transformação de funções das cores originárias das cores primárias conhecidas como X (vermelho), Y (verde) e Z (azul), em que os três valores especificam as quantidades de cores para se descrever uma cor do espectro de luz visível. Para o sistema CIE XYZ, existem três condições que definem a existência da cor, o objeto, o iluminante e o observador.



Fonte: LEÃO, 2005.

Figura 2 –Modelo de cor CIE XYZ.

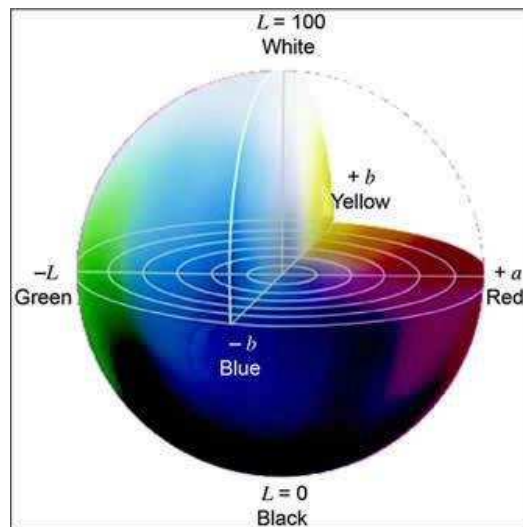
Conforme Leão (2005), o modelo de cor CIELAB (Figura 3) foi criado pela CIE para aumentar a uniformidade das cores percebidas pelo sistema visual humano. Nesse modelo, é determinado um espaço de cor tridimensional onde o eixo do  $a^*$  e o de  $b^*$  formam um plano ortogonal ao eixo do  $L^*$ . O  $L^*$  representa o valor de luminosidade da cor, o  $a^*$  pode variar do verde para o vermelho e  $b^*$ , do amarelo para o azul.



FONTE: LEITE, 2006

Figura 3 – Modelo de cor CIELAB.

Conforme Minolta (2007), o modelo de cor CIE LCH (Figura 4) é muito semelhante ao modelo de cor CIE LAB, porém em vez de utilizar coordenadas retangulares, usam-se coordenadas cilíndricas, em que  $L^*$  indica a luminosidade exatamente como no modelo CIE LAB; o valor  $C^*$ , o croma; e  $h$ , o ângulo de tonalidade.



FONTE: MINOLTA, 2007

Figura 4 – Modelo de cor CIE LCH.

Com o desenvolvimento de técnicas de medição óptica e os vários padrões definidos pelas CIE, os olhos foram substituídos por aparelhos e funções matemáticas para calcularem as cores e suas diferenças (SCHANDA, 2007).

Em termos mais compreensíveis, a coordenada  $L^*$  representa quanto mais clara ou mais escura é a amostra, com valores variando de 0 (totalmente preta) a 100 (totalmente branca). A coordenada  $a^*$  pode assumir valores de  $-80$  (verde) a  $+100$  (vermelha); e a coordenada de cromaticidade  $b^*$  pode variar de  $-50$  (azul) a  $+70$  (amarela) (ALVES et al., 2008).

A saturação ( $c^*$ ) representa a intensidade de uma cor particular, indicando a pureza da cor em relação ao branco, sendo definida pela quantidade de cinza que contém uma cor: quanto mais cinza ou mais neutra for, menos brilhante ou menos "saturada" é a cor. Um maior valor de  $c^*$  indica maior pureza ou intensidade da cor.

## **2.7. Bebidas isotônicas**

As bebidas isotônicas são repositores hidrolíticos formulados a partir da concentração variada de eletrólitos, associada às concentrações variadas de carboidratos, com o objetivo de reposição hídrica e eletrolítica decorrentes da prática de exercícios físicos (CASTRO et al., 2006). Segundo Petrus e Faria (2005), uma bebida isotônica é aquela que apresenta concentração de substâncias ou minerais semelhantes aos encontrados nos fluidos orgânicos. O balanço entre os eletrólitos (minerais) evita a desidratação durante a prática esportiva. Um isotônico deve possuir pressão osmótica semelhante à do sangue humano. Essa característica permite que a bebida seja rapidamente absorvida após o consumo.

Os eletrólitos estão envolvidos na maioria dos processos biológicos e os mais importantes são: sódio, cloreto, potássio, cálcio, magnésio e fósforo. Esses devem estar presentes na composição de bebidas isotônicas, a fim de possibilitar a rápida recuperação das perdas desses minerais pela pele e urina durante a prática de exercícios físicos (SILVA et al., 2006).

Segundo a RDC 18 da ANVISA (BRASIL, 2010), os suplementos hidroeletrólíticos para atletas devem atender aos seguintes requisitos:

- A concentração de sódio no produto pronto para consumo deve estar entre 460 e 1.150  $\text{mg L}^{-1}$ , devendo ser utilizados sais inorgânicos para fins alimentícios como fonte de sódio.
- A osmolalidade do produto pronto para consumo deve ser inferior a 330  $\text{mOsm/kg}^{-1}$  água (próxima à osmolalidade plasmática, para facilitar a restauração hídrica).
- Os carboidratos podem constituir até 8% (m/v) do produto pronto para consumo.

- As vitaminas e minerais podem ser adicionadas ao suplemento, conforme o regulamento técnico específico sobre adição de nutrientes essenciais.
- O potássio pode ser adicionado ao produto em até 700 mg L<sup>-1</sup>.
- O produto não pode ser adicionado de outros nutrientes e não nutrientes.
- O suplemento não pode ser adicionado de fibras alimentares.
- O produto pode ser comercializado em diferentes formas de apresentação, como tablete, comprimido, pó, gel, líquido, cápsula, barra, entre outras, desde que atenda aos requisitos específicos estabelecidos anteriormente.

Sichert-Hellert e Kersting (2001) relataram que o consumo de vitaminas do complexo B aumentou entre jovens e adolescentes na Alemanha em razão do consumo de bebidas fortificadas, como isotônicos e energéticos. Campbell e Geik (2004) discutiram sobre as necessidades nutricionais de atletas idosos, uma vez que mudanças na manutenção da temperatura corporal associadas à idade desses atletas levam a aumento da susceptibilidade à desidratação. Esses autores enfatizaram a dieta como sendo a ferramenta para a manutenção de saúde e desempenho durante os exercícios físicos, levando em consideração a necessidade de suplementação de certas vitaminas e minerais, como as vitaminas B2, B6, B12, D, E, o ácido fólico e os minerais cálcio e ferro, o que pode ser obtido por meio de bebidas isotônicas.

Para garantir a segurança do consumidor que procura essas bebidas, é necessário que o nível dos micronutrientes obedeça a *Recommended Dietary Allowance* (RDA), também conhecido como o nível de ingestão diária (MARCHIONI et al., 2004). Para adultos jovens, homens e mulheres, na faixa etária de 19 a 24 anos, a RDA visa valores entre 500 e 2.400 mg de sódio por dia (RDA, 1989). Uma embalagem de 500 mL de uma bebida isotônica contém 225 mg de sódio, o que significa menos de um décimo da quantia máxima apresentada pela RDA (PONTES, 2004).

Acompanhando a tendência mundial, o segmento de bebidas isotônicas vem ampliando seu mercado, introduzindo novos sabores e atendendo à demanda crescente por novos produtos (DE MARCHI; MONTEIRO, 2003). Tradicionalmente, os isotônicos têm sido preparados utilizando-se corantes e aromatizantes artificiais, além de conservadores. O emprego de polpas, sucos ou extratos na produção de isotônicos aponta para uma nova perspectiva, agregando à bebida vantagens nutricionais, além de responder ao forte apelo por produtos naturais (DE MARCHI e MONTEIRO, 2003; BEVERAGE WORLD INTERNATIONAL, 1998; GIESE, 1995).

O emprego dos extratos antociânicos de frutas, como jabuticaba, como corante e ingrediente funcional em alimentos e bebidas torna-se muito interessante por causa do crescimento do mercado de produtos alimentícios benéficos à saúde. Entretanto, existem muitas limitações para a aplicação comercial de antocianinas em produtos alimentícios e bebidas em razão da baixa estabilidade desses pigmentos, que depende da própria estrutura química, da concentração, do pH, da temperatura, da presença de oxigênio, da luz, do ácido ascórbico, dos cofatores e dos açúcares etc. (ROSSO, 2006).

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

Este trabalho foi realizado nos Laboratórios de Química e Análise de Alimentos, de Inovaleite e de Corantes Naturais e Compostos Bioativos do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

#### **3.1. Matéria-prima**

##### **3.1.1. Permeado da ultrafiltração**

O permeado utilizado foi obtido pela ultrafiltração do leite pelo sistema de membranas do Laticínios Escola, que pertence ao Laboratório Inovaleite da UFV, Viçosa, MG.

A planta-piloto de ultrafiltração usada foi da marca WGM Sistemas, equipada com membrana espiral de polisulfona/poliamida, com massa molar de corte de 10 kDa. Durante a ultrafiltração do leite, utilizou-se temperatura entre 45 °C e 50 °C para maximizar o fluxo de permeado, já que nesse intervalo o leite apresenta viscosidade mínima e para minimizar a precipitação de sais de cálcio e desnaturação de proteínas. A variação de pressão aplicada ao leite foi de 0,99 atm, sendo a pressão de entrada de 2,96 atm e a de saída de 1,97 atm. A área filtrante da membrana equivale a 6 m<sup>2</sup>.

Porções de 1 e 3 L de permeado foram envasadas em embalagens de polietileno e mantidas congeladas (-18 °C a - 20 °C), em freezer convencional. No momento da sua utilização, amostras de permeado foram previamente descongeladas em geladeira ( $\pm 5$  °C) por 24 h.

##### **3.1.2. Casca de Jabuticaba**

Foram coletados 30 kg da fruta de jaboticaba da espécie *Myrciaria jaboticaba* (Vell) Berg cv 'Sabará' na fruticultura da Universidade Federal de Viçosa, safra 2014/2015. As frutas foram higienizadas em tanques de imersão de água contendo 100 mg/L de hipoclorito de sódio a 5% de cloro ativo, por 15 min. Em seguida, essas foram despulpadas manualmente, e as cascas foram congeladas em nitrogênio líquido, embaladas em embalagem de polietileno e, posteriormente, mantidas sob congelamento (-18°C a -20°C). No momento das análises e do preparo dos extratos, amostras da casca da fruta foram descongeladas sob refrigeração (5 °C) por 24 h, de acordo com as quantidades necessárias nas etapas de extração.

### **3.2. Obtenção do extrato de antocianinas da casca de jaboticaba**

O pigmento foi extraído segundo metodologia proposta por Cipriano (2011), que brevemente será detalhada.

Cerca de 5 g de casca de jaboticaba foram triturados em liquidificador doméstico (marca Mondial) com etanol 70% (v/v) (1:2 cascas/solvente) e acidificado após a trituração com solução de ácido cítrico 6%, até pH 3,0. Em seguida, a mistura foi deixada em repouso, protegida da luz e sob refrigeração (4 °C ±1 °C) por 24 h. O material foi filtrado em tecido fino de náilon e novamente em papel-filtro quantitativo watman nº 1, e o volume foi completado para 25 mL em balão volumétrico com a solução extratora.

O extrato obtido foi concentrado até eliminação total do solvente em evaporador rotativo (Laborota, 4000) a 40 °C, protegido da luz. O extrato foi concentrado até atingir um teor de sólidos solúveis totais de aproximadamente 9 °Brix. O armazenamento dos extratos concentrados foi feito em frascos âmbar, com a temperatura de refrigeração de 4 °C, até a utilização deles.

### **3.3. Elaboração da bebida**

Para chegar à formulação final da bebida isotônica desse experimento, foram realizados testes preliminares, em laboratório, com diferentes concentrações de extrato concentrado da casca da jaboticaba (3,0% (v/v); 3,5% (v/v); 4,0% (v/v); e 5,0% (v/v)), a fim de adquirir uma bebida com osmolalidade entre 290 e 330 mOsm·kg<sup>-1</sup>.

Escolhida a melhor formulação, ou seja, aquela que obteve a osmolalidade entre 290 e 330 mOsm·kg<sup>-1</sup>, foi elaborada a bebida final em maior escala para se fazer o estudo de estabilidade. Para isso, foi adicionado ao permeado a sucralose na

concentração de 0,0075% (m/v). Houve um pré-aquecimento em micro-ondas até atingir a temperatura de 40 °C. O frasco contendo a mistura foi deixado em banho-maria até atingir a temperatura de pasteurização (62,8 a 65 °C/30 min). Após os 30 min de pasteurização, foi preparado um banho de gelo e feito um resfriamento rápido, até atingir a temperatura de 40 °C, para a adição dos conservantes sorbato de potássio (0,01% (m/v) e benzoato de sódio (0,05% (m/v)). Houve novamente um resfriamento em banho de gelo até atingir a temperatura de 20 °C para a adição do extrato antociânico da casca da jabuticaba 3,5% (v/v) e do aromatizante idêntico ao natural sabor frutas vermelhas 0,01% (v/v). As bebidas foram distribuídas em frascos de vidros com capacidade de aproximadamente 60 mL, que foram previamente higienizados por 30 min em água em ebulição e secos em estufas.

### **3.4. Delineamento experimental**

O experimento para estudo da estabilidade da bebida foi conduzido no delineamento inteiramente casualizado em esquema de parcela subdividida, sendo na parcela tratamentos: luz a 4 °C; luz a 25 °C; ausência de luz a 4 °C; e ausência de luz a 25 °C. Na subparcela, foi o tempo de estocagem de amostras de bebidas em cada tratamento, totalizando nove tempos (0, 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50 e 60 dias) para as variáveis pH, acidez, osmolalidade, sólidos solúveis totais, compostos fenólicos e atividade antioxidante; 13 tempos (0, 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50 e 60 dias) para as variáveis de cor e antocianinas totais; e três tempos (0, 30 e 60 dias) para as análises microbiológicas.

As formulações de bebidas foram distribuídas em frascos de vidros transparentes ou âmbar de capacidade de 60 mL, hermeticamente fechados com tampa de plástico.

Para avaliar o efeito da luz, frascos transparentes foram colocados sob lâmpadas fluorescentes (40W, ~ 2500 lumens), correspondente à luz do dia, mantendo distância em torno de 5 cm entre si, protegidas de qualquer outra fonte de luz, a 25 °C; e os demais, em geladeira display a 4 °C.

Os frascos âmbar foram distribuídos e colocados em caixas fechadas de papelão e armazenados em geladeira (4 °C) e em temperatura ambiente (25 °C).

Todo experimento foi feito em três repetições experimentais, e as análises físicas, químicas e microbiológicas foram feitas em duplicata.

### **3.5. Análises físicas e químicas**

#### **3.5.1. pH**

Realizou-se pelo método eletrométrico, pela via direta e pela imersão do potenciômetro nas amostras. A leitura foi feita em equipamento digital (marca MS Technopon Equipamentos Especiais, modelo mPA-210 e eletrodo modelo AF 405), seguindo as normas descritas do Instituto Adolfo Lutz (2008).

#### **3.5.2. Acidez titulável**

Determinou-se por titulação com solução padronizada de NaOH ( $0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ), tendo a fenolftaleína como indicador de acordo com metodologia descrita no Instituto Adolfo Lutz (2008). O resultado foi expresso em % de ácido láctico ( $\text{m}\cdot\text{v}^{-1}$ ) para o permeado, enquanto na bebida a acidez foi expressa em % de ácido cítrico ( $\text{m}\cdot\text{v}^{-1}$ ).

#### **3.5.3. Nitrogênio Total**

A discriminação do teor de nitrogênio total no permeado foi realizada pelo método Kjeldahl modificado.

#### **3.5.4. Água**

O teor de água foi definido pela perda de massa das amostras em estufa a  $105 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ , com remoção da água e das substâncias voláteis. O método baseia-se na secagem de exatamente 5 g da amostra, dispostos em cadinhos, em estufa durante 4 h, e pesagem a cada 30 min até massa constante. O resíduo obtido após a evaporação representa o teor de sólidos totais da amostra (Instituto Adolfo Lutz, 2008).

#### **3.5.5. Resíduo Mineral Fixo (RMF)**

Fez-se a determinação de cinzas por incineração das amostras em mufla à temperatura de aproximadamente  $550 \text{ }^\circ\text{C}$  até se obterem cinzas claras.

Pesaram-se, diretamente em cadinho, previamente aquecido em estufa  $105 \text{ }^\circ\text{C}$ , exatamente cerca de 5 g de amostra. Os cadinhos foram levados à mufla a  $550 \text{ }^\circ\text{C}$  e incinerados por 3 h ou até peso constante.

#### **3.5.6. Sólidos solúveis totais**

Discriminou-se por leitura direta em temperatura ambiente, em refratômetro de bancada Abbé com escala graduada em °Brix, previamente calibrado com água destilada de acordo com as orientações descritas no Instituto Adolfo Lutz (2008).

### **3.5.7. Carboidratos totais**

Esse componente foi definido por meio da diferença percentual da soma das análises de água, proteína, cinzas e lipídeos totais.

### **3.5.8. Lactose**

O teor percentual (m/v) de lactose foi determinado por meio do método da Cloramina-T. O método consiste em uma valoração indireta redox, na que previamente se extraiu a lactose, sendo esse separado do resto dos componentes do leite. (PEREIRA et al, 2001).

### **3.5.9. Determinação de minerais**

Antes de realizar a determinação dos minerais, foi feita a desmineralização de todas as vidrarias. Para isso, os materiais foram colocados de molho por 24 h em solução de HCl 20% v/v e depois enxaguados com água deionizada por três vezes.

Para definir os minerais sódio, potássio, cálcio, magnésio e fósforo em amostras de permeado e da bebida, foi feita, primeiramente, a digestão das amostras, em que foram colocados 1 mL de cada amostra, em erlenmeyer 25 mL, sendo, em seguida, adicionados de 15 mL de solução de nitroperclórico (3+1 v/v). No interior de capela de exaustão, as amostras foram aquecidas em chapas aquecedoras até fervura branda (~120 °C) e mantidas nessa condição até a formação de solução límpida, sem coloração amarela. Após resfriamento, as amostras digeridas foram transferidas para um balão volumétrico de 25 mL, completado com água deionizada. Posteriormente, foram transferidas a tubos de ensaio apropriados.

Para determinar o sódio e potássio por fotometria de chama (marca Sorning, modelo 400), as amostras digeridas foram novamente diluídas de 1:10 (v/v) e 1:5 (v/v).

O equipamento provido com lâmpadas para sódio e potássio foi devidamente calibrado com os padrões da marca Merck para sódio e potássio nas concentrações de 1, 2, 5 e 10 mg/L. Em seguida, foram feitas as leituras das amostras de permeado e da bebida. Para o cálculo, foi usada a curva analítica apropriada para esses minerais.

Já para definir o cálcio, magnésio e fósforo por absorção atômica, 1 mL das amostras foi colocada em recipiente apropriado, acrescentando 1 mL de solução de cloreto de estrôncio 3000 mg/L e 8 mL de água deionizada, resultando em uma diluição final de 1:125 (v/v). A leitura foi feita em espectrômetro de absorção atômica, marca GBC, modelo Avanta Sigma, equipado com lâmpada para cálcio, magnésio e fósforo.

Para cálculo das concentrações, foi utilizada a curva analítica apropriada para cálcio e magnésio e fósforo.

### 3.5.10. Medida da Osmolalidade

A fim de medir a osmolalidade das formulações das bebidas nos testes preliminares para caracterizar a bebida, durante os estudos de estabilidade foi usado o método Crioscópio, que se baseia no abaixamento do ponto de congelamento para calcular o valor dessa osmolalidade.

Para fazer as análises, foram pipetados 2,5 mL de amostras. Fez-se a leitura direta do abaixamento do ponto de congelamento num crioscópio marca ITR modelo MK540, previamente calibrado com soluções padrão. Com os valores de abaixamento do ponto de congelamento obtidos no crioscópio em °C, foi possível calcular a osmolalidade expressa em mOsmol.L<sup>-1</sup> (Equação 1):

$$\text{Osmolalidade} = \left( \frac{\Delta T_C}{K_C} \right) \cdot 1000 \quad (1)$$

em que:

$\Delta T_C$  = Abaixamento do ponto de congelamento (°C).

$K_C$  = Constante crioscópica da água (1,86 °C mol<sup>-1</sup> kg<sup>-1</sup>).

### 3.5.11. Análise colorimétrica

A avaliação objetiva da cor das amostras da bebida foi realizada utilizando o colorímetro *Color Quest II* (Hunter Lab, Reston, VA), conectado a computador provido do sistema *software* Universal. O equipamento foi devidamente calibrado para reflectância incluída, utilizando um ângulo de observador de 10° e iluminante D65, com posicionamento dos dispositivos protetor de luz, azulejo branco calibrado e azulejo cinza calibrado na porta de reflectância.

As amostras foram transferidas para uma cubeta de quartzo apropriada, com capacidade para 50 mL para que as leituras fossem feitas.

Os valores de tonalidade ( $h^*$ ) e saturação ( $C^*$ ) foram calculados a partir dos valores de  $a^*$  e  $b^*$ , conforme as Equações 2 e 3:

$$C^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad (2)$$

$$h^* = \text{Arc tan}\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \quad (3)$$

Os dados da Equação (3) foram multiplicados por  $180/\pi$  para expressar os resultados da tonalidade em graus ( $h^*$ ).

Um dos métodos mais utilizados para cálculo de diferenças de cor é Delta E ( $\Delta E$ ) – (CIE1976), que usa os valores numéricos do modelo CIE LAB, conforme a equação

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (4)$$

### 3.5.12. Compostos fenólicos totais

As análises de compostos fenólicos totais dos extratos e das bebidas foram feitas segundo metodologia citada por Singleton e Rossi (1965), com modificações que utiliza o reagente de Folin-Ciocalteu.

Em tubo de ensaio, foram misturados 0,6mL de amostra e 3,0 mL de reagente folin-Ciocalteu (Laborclin, 2N) diluídos em água destilada (1:10 v/v). Os tubos foram homogeneizados em agitador de tubos. Após 3 min de agitação, foram adicionados 2,4 mL de solução saturada de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (7,5% m/v). Os tubos permaneceram em repouso, ao abrigo da luz, por 1 h, para que então fosse realizada a leitura de absorvância, em espectrofotômetro (Rayleigh, modelo UV-9200) em 760 nm.

O Índice de Polifenóis Totais (IPT) foi determinado a partir da curva-padrão de ácido gálico (P.A, Vetec) de concentração, variando entre 0 e 200  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ . Os resultados foram expressos em ácido gálico equivalente ( $\text{mg AGE}\cdot\text{L}^{-1}$ ), com base na equação obtida na curva analítica.

### 3.5.13. Antocianinas totais

O teor de antocianinas totais dos extratos e das bebidas foi determinado por espectrofotometria, de acordo com Fuleki e Francis (1968), utilizando o método de quantificação por pH único, que consistiu na transferência de uma alíquota da amostra

(3,5 mL) para um balão volumétrico de 5 mL, tendo o volume completado com uma mistura de 85 partes de solução Etanol 95% com 15 partes da solução HCl 1,5 N. Em seguida, fez-se a leitura da absorvância, em espectrofotômetro (Rayleigh, modelo UV-9200) em 535 nm.

Para os cálculos, usou-se o Coeficiente de Extinção médio ( $E_{535\ 1\% \ 1\text{cm}}$ : 98,2  $\text{L}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ ), que corresponde à cianidina-3-glicosídeo (FULEKI e FRANCIS, 1968). O teor de antocianinas foi obtido pela Equação 5.

$$A = \varepsilon \cdot b \cdot C' \quad (5)$$

em que:

A = Absorvância (Abs) em 535 nm.

$\varepsilon$  = Coeficiente de extinção médio ( $98,2\cdot\text{L}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ ).

C' = Concentração ( $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ).

b = Espessura da cubeta (1cm).

#### **3.5.14. Ensaio do cátion radical ABTS**

A atividade antioxidante definida pelo ensaio do cátion radical ABTS foi realizada segundo metodologia descrita por Re et al. (1999), com modificações.

Em um recipiente âmbar, foi misturada uma solução de ABTS  $7\ \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  e persulfato de potássio  $2,45\ \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  na proporção 1:1 (v/v), que permaneceu ao abrigo da luz durante 12 a 16 h para a geração do cátion cromóforo ABTS<sup>•+</sup>. Após esse período, o radical foi diluído em etanol 80% até que se atingisse absorvância de  $0,700 \pm 0,005$ , no comprimento de onda 734 nm (espectrofotômetro Rayleigh, modelo UV-9200).

Em tubos de ensaio, foram adicionados 0,5mL de diferentes diluições da amostra e 3,5 mL de solução ABTS<sup>•+</sup>, seguido de homogeneização em agitador de tubos. A absorvância foi então lida após 6 min de reação, no comprimento de onda de 734 nm.

A atividade antioxidante total foi expressa pelo valor da atividade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC), em  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ . O valor da TEAC foi calculado com base na curva analítica de Trolox, preparada com soluções do padrão de concentrações, que variavam entre 4,0 e 100,0  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ , nas mesmas condições das amostras.

### 3.5.15. Ensaio do cátion radical DPPH

A atividade antioxidante também foi discriminada pelo ensaio do cátion radical DPPH, segundo metodologia descrita por Brand-Williams et al. (1995), com modificações.

Foi preparada uma solução metanólica de DPPH com concentração de  $0,6 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ . Em ambiente escuro, foram transferidas alíquotas de 0,1 mL de diferentes diluições da amostra para tubos de ensaio, onde foram adicionados 2,9 mL da solução metanólica do radical DPPH. Em seguida, homogeneizou-se em agitador de tubos.

Feito isso, os tubos foram deixados em repouso ao abrigo da luz durante 25 min. Após esse período, foi feita a leitura da absorbância a 515 nm (espectrofotômetro Rayleigh, modelo UV-9200, previamente calibrado com metanol (branco)).

Para quantificar a atividade antioxidante, foi elaborado previamente uma curva analítica de diferentes diluições metanólicas da solução padrão Trolox, com concentrações que variaram entre  $0,698$  e  $0,12 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ , nas mesmas condições das amostras.

### 3.5.16. Estudo de estabilidade da bebida

Neste estudo, foi avaliada a cinética de degradação ou alteração das variáveis de cor e antocianinas totais durante o período de 60 dias de armazenamento das bebidas formuladas com o permeado da ultrafiltração contendo extrato antociânico da casca da jabuticaba frente às condições de luz (ausência e presença) e temperatura ( $4 \text{ }^\circ\text{C}$  e  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ ). Para isso, foram determinados a velocidade de degradação ( $k_d$ ) e o tempo de meia-vida ( $t_{1/2}$  – tempo necessário para degradar ou alterar em 50% a variável analisada ).

#### 3.5.16.1. Cálculo da velocidade de degradação ( $k_d$ )

Para determinar a constante de velocidade de degradação ou alteração, foi admitida a cinética de 1ª ordem e sua estimativa ocorreu conforme Equação (6):

$$\ln \left( \frac{C}{C_0} \right) = -k_d \cdot t \quad (6)$$

em que C é a concentração ou o valor da variável após o tempo de armazenamento das bebidas isotônicas sob condições de luz e temperatura controladas, proposto no estudo;  $C_0$ , a inicial no tempo zero;  $k_d$ , a velocidade de degradação ou alteração; e t, o tempo.

Por análise de regressão linear, as velocidades de degradação ou a alteração foram estimadas para cada combinação de luz e temperatura.

### **3.5.16.2. Determinação do tempo de meia-vida ( $t_{1/2}$ )**

A partir dos valores obtidos para  $k_d$ , foram calculados para cada condição os valores de  $t_{1/2}$  a partir da relação apresentada na Equação 7.

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k_d} \quad (7)$$

## **3.6. Avaliação microbiológica da bebida**

### **3.6.1. Mesófilos aeróbios**

A enumeração de mesófilos aeróbios consistiu na aplicação da técnica *pour plate*, utilizando aplicação direta da bebida e de suas diluições em Ágar Padrão para Contagem (PCA), incubação em temperatura de  $36 \pm 1$  °C por 48 h e contagem das colônias, sendo os resultados expressos em UFC·mL<sup>-1</sup>, usando a metodologia APHA (DOWES, 2001) e descrita na Instrução Normativa 62 do Ministério da Agricultura (BRASIL, 2003).

### **3.6.2. Psicotróficos**

A contagem de microrganismos psicotróficos foi determinada segundo Cousin et al. (2001), utilizando-se PCA e incubação a 7 °C por 10 dias. Para a contagem das colônias de psicotróficos, foram selecionadas as placas contendo de 25 a 250 colônias e, posteriormente, foi calculado o número de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) por mL do produto.

### **3.6.3. Número mais provável de coliformes a 30 °C e 45 °C**

Realizou-se a análise microbiológica de coliformes a 30 °C e a 45 °C pela técnica do Número Mais Provável (NMP), de acordo com Kornacki e Johnson (2001), utilizando-se caldo Lauril Sulfato Triptose para o teste presuntivo, caldo Bile Verde Brilhante para confirmar coliformes a 36 °C e a 30 °C e Caldo EC para comprovar coliformes que fermentam a 45 °C. O resultado foi expresso em NMP por mL de bebida.

### **3.6.4. Fungos filamentosos e leveduras**

Para a contagem de fungos filamentosos e leveduras, foram inoculados 0,1 mL de cada uma das diluições sobre a superfície de placas contendo Agar batata dextrose, em duplicata. As placas foram incubadas em temperatura de 25 °C, por seis dias. Selecionaram-se para a leitura as placas com 15 a 150 colônias, e os resultados foram expressos em UFC mL<sup>-1</sup>, seguindo a metodologia APHA (DOWES, 2001), descrita na Instrução Normativa 62 do Ministério da Agricultura (BRASIL, 2003).

### **3.6.5. *Salmonella* ssp.**

Para identificar a ausência ou presença de *Salmonella* foi utilizado o ágar salmonella-shigella. As placas foram incubadas em temperatura de 36 °C, de 18 a 24 h. Quando a identificação deu negativa após 24 h, essas foram reincubadas por mais 24 h.

## **3.7. Avaliação sensorial da bebida**

### **3.7.1. Preparo da bebida**

A bebida foi elaborada com todos os padrões de higiene necessários de forma a não haver risco de contaminação, tendo assim cuidados ao manipular o alimento e sanitizar os utensílios a serem usados para a elaboração da formulação. Para certificar que não houve contaminação durante o processamento, foram feitas análises microbiológicas (coliformes totais e termotolerantes).

Foram feitas duas formulações de bebidas isotônicas, uma com aroma de frutas vermelhas; e outra, de goiaba. As bebidas foram distribuídas em frascos de vidros com capacidade de aproximadamente 300 mL, que foram previamente higienizados por 30 min em água em ebulição.

### **3.7.2. Teste de aceitabilidade**

As avaliações foram realizadas em uma academia localizada no município de Viçosa, MG, e autorizadas pelo Comitê de Ética (CAAE 48143415.1.0000.5153).

A aceitação foi avaliada por um número de 100 provadores não treinados, utilizando a escala hedônica de nove pontos (Figura 5). As amostras (duas amostras) foram apresentadas refrigeradas (4 °C), em copos descartáveis de 50 mL. Esses foram marcados com um código de três dígitos, sendo apresentados de maneira aleatória aos

juízes. A cada avaliação, os juízes foram instruídos a enxaguar a boca com água para retirar possíveis resíduos no interior da boca.

Nome: _____		Data: _____	
Você está recebendo duas amostras codificadas, avalie as amostras utilizando a escala abaixo para descrever o quanto você gostou e desgostou dos produtos. Marque a numeração que melhor reflita seu julgamento.			
9- Gostei extremamente	Cor:	_____	_____
8- Gostei muito		735	259
7- Gostei moderadamente	Sabor:	_____	_____
6- Gostei ligeiramente		735	259
5- Indiferente			
4- Desgostei ligeiramente	Aroma:	_____	_____
3- Desgostei moderadamente		735	259
2- Desgostei muito			
1- Desgostei extremamente	Impressão global:	_____	_____
		735	259
Comentários: _____			

Figura 5 - Escala hedônica de nove pontos para avaliar a aceitação da bebida isotônica à base de permeado de ultrafiltração de leite, apresentada aos provadores em temperatura de refrigeração.

Também foi avaliado o grau de interesse dos consumidores em relação à bebida isotônica pela aplicação de um questionário (Figura 6). As perguntas avaliaram a frequência de consumo usual dos avaliadores, o sexo, a faixa etária, os sabores preferenciais e as expectativas em relação a uma bebida isotônica.

Foi avaliado o Índice de Aceitabilidade (IA) da bebida. Para o cálculo, foi adotada a expressão:

$$IA(\%) = \frac{A}{B} \cdot 100 \quad (8)$$

A= nota média obtida para o produto.

B= nota máxima dada ao produto.

O IA com boa repercussão tem sido considerado  $\geq 70\%$ .



## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Caracterização das matérias-primas

Na Tabela 2, evidenciam-se os resultados da caracterização física e da química do permeado e extrato concentrado da casca da jabuticaba.

Tabela 2 – Valores médios ( $\pm$  desvio-padrão) das características físicas-químicas do permeado e extrato concentrado da casca da jabuticaba.

Características	Permeado	Extrato
Água, % (m/v)	95,59 $\pm$ 0,18	-
Nitrogênio total, % (m/v)	0,047 $\pm$ 0,001	-
Cinzas, % (m/v)	0,03 $\pm$ 0,01	-
Lactose, % (m/v)	4,07 $\pm$ 0,16	-
Ph	6,35 $\pm$ 0,51	2,95 $\pm$ 0,06
Acidez total titulável, % (m/v)	0,063 $\pm$ 0,0058 <sup>(1)</sup>	4,47 $\pm$ 0,27 <sup>(2)</sup>
Sólidos solúveis totais (°Brix)	4,4 $\pm$ 0,41	8,88 $\pm$ 0,16
Osmolalidade, mOsmol L <sup>-1</sup>	230,43 $\pm$ 0,65	-
Sódio (mg L <sup>-1</sup> )	454,17 $\pm$ 7,22	-
Potássio (mg L <sup>-1</sup> )	1175,00 $\pm$ 25,03	-
Cálcio (mg L <sup>-1</sup> )	512,11 $\pm$ 8,46	-
Magnésio (mg L <sup>-1</sup> )	165,28 $\pm$ 32,38	-
Fósforo (mg L <sup>-1</sup> )	351,07 $\pm$ 11,63	-
Luminosidade (L*)	70,99 $\pm$ 0,31	26,09 $\pm$ 2,25
Coordenada a*	-5,39 $\pm$ 0,17	5,67 $\pm$ 2,13
Coordenada b*	13,63 $\pm$ 0,70	0,95 $\pm$ 0,51
Índice de saturação (C*)	14,66 $\pm$ 0,71	5,01 $\pm$ 3,42
Ângulo de tonalidade (h*)	111,58 $\pm$ 0,41	9,02 $\pm$ 2,30
Antocianinas totais, mg 100 g <sup>-1</sup>	-	112,1 $\pm$ 2,59
Polifenóis totais, mg AGE 100 g <sup>-1</sup>	-	839,74 $\pm$ 8,49
Atividade antioxidante DPPH ( $\mu$ M equivalente de trolox/g)	-	76,32 $\pm$ 0,61
Atividade antioxidante ABTS ( $\mu$ M equivalente de trolox/g)	-	78,45 $\pm$ 0,63

\*Os valores representam a média de três repetições das análises em duplicata. <sup>(1)</sup> Expresso em ácido láctico e <sup>(2)</sup> Expresso em ácido cítrico. AGE = ácido gálico equivalente.

O teor de água do permeado apresentou-se elevado, como era de se esperar, visto que, ao passar pelo processo de ultrafiltração, grande parte dos sólidos representados pelas proteínas ficou retida na membrana, obtendo assim um teor de 95,59%. A lactose, o nitrogênio total e as cinzas somam aproximadamente 4,14%, constituindo o permeado.

O valor de pH (6,35) no permeado se encontrou dentro dos valores encontrados por outros autores como Fontes et al. (2015), os quais obtiveram o valor de 6,58 para o permeado obtido da ultrafiltração de soro de leite e Faedo et al. (2013), os quais alcançaram 6,70 para o permeado da ultrafiltração do leite. O valor de pH do extrato da casca de jabuticaba foi de 2,95. O baixo valor de pH apresentado foi em razão da adição de ácido cítrico durante a etapa de extração. O meio muito ácido é importante, uma vez que ajuda na extração do pigmento da matriz estudada e também na manutenção da coloração vermelha das antocianinas.

A acidez do permeado deste trabalho foi condizente com o pH, visto que enquanto esse se apresentou próximo da neutralidade, aquela exibiu valores muito baixos. Os resultados de Fontes et al. (2015) corroboraram com os resultados desta pesquisa, visto que esses obtiveram 0,056 % de acidez expressa em ácido láctico para o permeado da ultrafiltração do soro de leite.

A acidez do extrato foi de 4,47%, valor próximo ao encontrado por Zicker (2011), o qual avaliou a caracterização do extrato aquoso de jabuticaba processado em três períodos de tempo, sendo esses de 45, 30 e 15 s, encontrando valores de 4,35%, 4,06% e 4,15% expresso em ácido cítrico, respectivamente.

Os sólidos solúveis totais encontrados no permeado foram de 4,4 °Brix, valor próximo ao achado por Faedo et al. (2013), que foi de 5,2 °Brix. Já o teor de sólidos solúveis totais do extrato da casca de jabuticaba foi de 8,88 °Brix. Teixeira (2011) achou valores maiores, de 9,8 °Brix, para extrato processado mecanicamente por 15 s e 10,3 °Brix, para extrato processado mecanicamente por 45 s. Cipriano (2011) encontrou valor de 14,1 °Brix. O valor de sólidos solúveis totais de 8,88 °Brix foi determinante para a elaboração da bebida isotônica, uma vez que um valor de sólidos maior contribuía para o aumento da osmolalidade da bebida final.

A osmolalidade do permeado da ultrafiltração apresentou um valor de 230,43 mOsm·L<sup>-1</sup>, abaixo do valor determinado pela resolução RDC 18, da ANVISA, de 280 a 300 mOsm·L<sup>-1</sup> para bebidas isotônicas. Isso quer dizer que é possível a adição de ingredientes extras sem que ultrapasse a osmolalidade, porém essa adição deve ser feita

de modo controlado, visto que a osmolalidade inerente ao permeado já evidencia valor significativo.

Encontraram-se no permeado 1.175 mg L<sup>-1</sup> de potássio e 454,17 mg L<sup>-1</sup> de sódio. Esses valores já eram esperados, já que o leite desnatado possui cerca de 2.000 mg L<sup>-1</sup> de potássio e 650 mg L<sup>-1</sup> de sódio (DE BARROS, 2008), ou seja, no processo da ultrafiltração parte desses minerais foram todos para o permeado.

Fontes et al. (2015), ao avaliar o permeado da ultrafiltração do soro de leite, encontraram valores de sódio, potássio, cálcio e magnésio, respectivamente, de 374,4 mg L<sup>-1</sup>; 763,5 mg L<sup>-1</sup>; 250,7 mg L<sup>-1</sup>; 52,04 mg L<sup>-1</sup>. Essas diferenças significativas de minerais no permeado podem ocorrer em razão das diferenças do processo e da matéria-prima utilizadas como leite ou soro de leite.

Analisando o valor de L\*, foi observado que o permeado apresentou-se claro. Valores negativos de a\* e positivos de b\*, assim como os valores apresentados pelo ângulo de tonalidade (h\*) e índice de saturação (C\*), no sólido de cor, indicaram que a cor do permeado encontrava-se entre amarela e verde. Isso se deve à riboflavina, pigmento presente no leite, que permanece no permeado, conferindo uma coloração natural ao produto. O extrato apresentou baixo valor de L\* (26,09), indicando que era escuro (opaco). Em relação à coordenada a\*, o extrato de cascas de jabuticaba obteve o valor de (5,67), firmando tendência ao vermelho (valores positivos de a\*). Para a coordenada b\*, o extrato apresentou baixo valor (0,95). Visualmente, o extrato evidenciou cor roxo-escura.

O valor de h\*, que representa a tonalidade da cor, obtido para os extratos da casca de jabuticaba foi de 9,02°, indicando que está dentro da faixa de cor vermelha. Para saturação, que expõe a intensidade da tonalidade, o valor foi de 5,01, estabelecendo que os extratos ricos em antocianinas sejam obtidos por meio da extração ácida, a forma predominante é do cátion *flavilium*, que possui coloração vermelho intenso.

Ao estudar as coordenadas de cor do extrato da casca da jabuticaba, Rocha (2013) verificou valores de L\*, C\* e h\* de 24,71; 1,54; e -10,21, respectivamente, concluindo que esse extrato estudado apresentava coloração roxeado-escura, corroborando os resultados encontrados neste estudo.

O teor de antocianinas e o de fenólicos totais do extrato de cascas de jabuticaba foram de 112,1 mg·100 g<sup>-1</sup> e 839,74 mg AGE·100 g<sup>-1</sup>, respectivamente, enquanto o valor de atividade antioxidante foi de 76,32 µM Trolox·g<sup>-1</sup> pelo radical DPPH e 78,45

$\mu\text{M}\cdot\text{Trolox}\cdot\text{g}^{-1}$  pelo radical ABTS. O extrato demonstrou-se com boa capacidade antioxidante, em consequência da elevada concentração de antocianinas e fenólicos apresentados, esses contribuem diretamente nessa resposta.

A ação antioxidante de um composto está diretamente relacionada com componentes bioativos presentes, assim como depende da estrutura química e da concentração desses fitoquímicos no alimento, cujo teor é amplamente influenciado por fatores genéticos, condições ambientais, grau de maturação, variedade da planta etc. (MELO et al., 2009).

Santos et al. (2010), utilizando diferentes métodos de extração, encontraram valores de fenólicos totais e antocianinas totais no extrato de cascas de jabuticaba de  $3600,0 \text{ mg AGE}\cdot 100\text{g}^{-1}$  e  $500,41 \text{ mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$ , respectivamente. Valores superiores ao encontrados neste estudo. Santos et al. (2010) observaram que o solvente extrator que proporcionou maiores teores dos compostos bioativos foi etanol acidificado, ao passo que os métodos de extração que obtiveram maiores teores de compostos fenólicos foram os que também proporcionaram maior atividade antioxidante.

Em um estudo, Silva et al. (2010) avaliaram o teor de compostos fenólicos em extratos de cascas de jabuticaba, encontrando valor de  $636,23 \text{ mg AGE}\cdot 100\text{g}^{-1}$ . Já Cipriano (2011) achou valor de  $216,99 \text{ mg AGE}\cdot 100\text{g}^{-1}$ , enquanto Calloni (2014) obteve valor de  $313,7 \text{ mg AGE}\cdot 100\text{g}^{-1}$ .

Silva et al. (2010) encontraram valor de atividade antioxidante de  $723 \mu\text{M}$  de Trolox  $\cdot\text{g}^{-1}$  de extrato, valor esse superior ao encontrado neste trabalho. Leite-Legatti et al. (2012), avaliando os compostos bioativos e a atividade antioxidante de cascas de jabuticaba liofilizada, alcançaram o valor de  $9,458 \mu\text{M}$  de Trolox  $\cdot\text{g}^{-1}$  de amostra liofilizada. Rufino et al. (2010) relataram uma atividade antioxidante de  $37,5 \mu\text{M}$  de Trolox  $\cdot\text{g}^{-1}$  frutas inteiras frescas de jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*). As diferenças de resultados são em razão das formas em que as amostras foram preparadas, que foram extrato, amostra liofilizada e fresca. Os valores das atividades antioxidantes encontrados neste estudo pelo método de ABTS e DPPH foram elevados quando comparados a estudos com extrato hidroalcoólico de uva, de  $3,412 \mu\text{mol Trolox}\cdot\text{g}^{-1}$ , utilizando a metodologia ABTS, e  $6,1 \mu\text{mol Trolox}\cdot\text{g}^{-1}$ , pelo método de DPPH (VEDANA et al., 2008).

As análises das matérias-primas são de extrema relevância, uma vez que essas análises indicam as possibilidades de as matérias-primas serem utilizadas para fabricar novo produto, como o permeado, por possui naturalmente em sua composição os

minerais, que são essenciais na alimentação humana, devendo ser ingeridos diariamente, e o extrato antocianico da casca da jabuticaba, que é um corante natural e possui compostos bioativos. Sendo assim, a utilização dessas matérias-primas é promissora na elaboração de bebidas isotônicas.

#### 4.2. Caracterização da Bebida Isotônica

Os resultados das análises para caracterizar a bebida isotônica estão representados na Tabela 3.

Tabela 3 – Caracterizações física e química da bebida isotônica formulada com permeado da ultrafiltração de leite adicionado de extrato antocianico da casca de jabuticaba

Características	Média ± Desvio-padrão*
pH	3,56 ± 0,006
Acidez total titulável, % (m/v) em ácido cítrico	0,97 ± 0,07
Sólidos solúveis totais (°Brix)	5,83 ± 0,29
Osmolalidade, mOsmol·L <sup>-1</sup>	307,16 ± 1,12
Sódio (mg L <sup>-1</sup> )	463,24 ± 3,52
Potássio (mg L <sup>-1</sup> )	1204,06 ± 1,37
Cálcio (mg L <sup>-1</sup> )	509,87 ± 5,06
Magnésio (mg L <sup>-1</sup> )	162,06 ± 2,26
Fósforo (mg L <sup>-1</sup> )	352,18 ± 2,53
Luminosidade (L*)	41,65 ± 1,096
Coordenada a*	33,56 ± 0,79
Coordenada b*	19,31 ± 1,00
Índice de saturação (*C)	38,72 ± 1,18
Ângulo de tonalidade (h*)	29,90 ± 0,72
Antocianinas totais, mg·L <sup>-1</sup>	15,98 ± 1,16
Polifenóis totais, mg AGE·L <sup>-1</sup>	267,55 ± 18,20
Atividade antioxidante DPPH μM equivalente de trolox·mL <sup>-1</sup>	2,72 ± 0,116
Atividade antioxidante ABTS μM equivalente de trolox·mL <sup>-1</sup>	2,43 ± 0,09

\*Os valores representam a média de três repetições. AGE = ácido gálico equivalente.

O valor obtido para acidez total titulável foi de 0,97% de ácido cítrico; e o do pH, de 3,56. A elevada acidez foi por causa da adição de ácido cítrico durante a etapa da preparação da bebida, em que se utilizou esse ácido para abaixar o pH, uma vez que a antocianina possui coloração vermelha no pH próximo de 3.

Cavalcanti et al. (2010) avaliaram nove amostras de bebidas provenientes do mercado em relação as seguintes variáveis: pH e ATT. Os valores obtidos para o pH das bebidas variaram entre 2,05 (sabor guaraná e açaí) e 2,93 (sabor limão). Para acidez total titulável, os valores encontrados neste estudo variaram de 0,10 % (sabor limão) a 0,32 % de ácido cítrico (sabor guaraná e açaí).

Fontes et al. (2015), ao estudarem bebida eletrolítica à base de permeado, encontraram um valor de pH de 3,42 e uma acidez de 0,66% de ácido cítrico. A essa bebida não foi acrescentada corante natural. Esses trabalhos demonstraram as variações de resultados para o mesmo tipo de bebida, ou seja, isotônica, os resultados ainda evidenciaram que essas bebidas têm como característica baixo pH.

Observou-se que o teor de sólidos solúveis totais foi de 5,83 °Brix, valor próximo encontrado por Fontes et al. (2015), que foi de 5,90 °Brix. Esse valor de sólidos solúveis totais foi essencial para o controle da osmolalidade do produto.

O valor da osmolalidade da bebida foi de 307,16 mOsm·kg<sup>-1</sup>. São consideradas bebidas isotônicas aquelas cuja osmolalidade estão dentro da faixa de valor osmótico do plasma sanguíneo humano, que varia de 285 mOsm·kg<sup>-1</sup> a 295mOsm·kg<sup>-1</sup>; esse valor pode ser considerado até 330 mOsm·kg<sup>-1</sup> para as bebidas (BRASIL, 2010).

Cipriano (2011) avaliou bebidas isotônicas formuladas com extrato de casca de jabuticaba, extrato de polpa de açaí, mistura dos extratos e uma amostra comercial, obtendo-se os seguintes valores, respectivamente: 294,42; 285,95; 300,74; 359,19 mOsm·kg<sup>-1</sup>.

As análises dos minerais, sódio, potássio, cálcio, magnésio e fósforo indicaram a presença de teores apreciáveis desses, que, de fato, devem estar presentes em bebidas isotônicas. Quanto à presença de cálcio, magnésio e fósforo, a resolução RDC 18 (BRASIL, 2010) não faz restrições. Entretanto, a resolução recomenda que bebidas isotônicas apresentem sódio em concentração mínima de 460 mg L<sup>-1</sup> e máxima de 1.150 mg L<sup>-1</sup>. Observando o valor encontrado de 463,24 mg L<sup>-1</sup>, notou-se que o teor de sódio se encontrava dentro da faixa exigida. Para o teor de potássio, a resolução estipula que não ultrapasse 700 mg L<sup>-1</sup>. Para a bebida, foi encontrado o valor de 1.204,06 mg L<sup>-1</sup>, acima do valor permitido.

O permeado utilizado para elaborar a bebida isotônica já possui naturalmente os minerais que vem do leite. Outros isotônicos naturais como a água-de-coco possuem elevada concentração de alguns minerais, entre eles, sódio e potássio. Apesar dessa elevada concentração, é um produto consumido frequentemente para reidratação após o exercício físico, além de ser facilmente consumida.

Observou-se que a bebida apresentou valor de  $L^*$  menor, indicando maior luminosidade, ou seja, uma bebida clara. O parâmetro  $a^*$  forneceu um valor positivo, indicando que esse aproximou mais do eixo da cromaticidade do vermelho, indicando coloração mais avermelhada nas amostras. Os valores referentes ao parâmetro  $b^*$  foram também positivos, o que indica a presença da tonalidade amarela na bebida avaliada.

A bebida apresentou 38,72 para o índice de saturação de cor, ou seja, uma média vivacidade. O parâmetro  $h^*$  demonstrou a localização da cor em um diagrama, onde o ângulo  $0^\circ$  representa vermelho puro; o  $90^\circ$ , o amarelo puro; o  $180^\circ$ , o verde puro; e o  $270^\circ$ , o azul puro. No caso da bebida formulada com extratos de antocianinas, o valor de  $h^*$  foi de  $29,90^\circ$ . Com isso, é possível inferir que a bebida desenvolvida possui predominância de tonalidade vermelha.

O teor de antocianinas totais expressos em cianidina-3-glicosídeo encontrado neste estudo foi de  $15,98\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ . Burin et al. (2011) avaliaram teores de antocianinas em bebidas isotônicas formuladas com extrato em pó de uva Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera L.*), encontrando teores aproximados de  $25,11\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , para as amostras cujo extrato em pó havia sido microencapsulado com carreador maltodextrina, e  $44,66\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , para bebida formulada com extrato em pó microencapsulado com carreador maltodextrina e ciclodextrina. Cipriano et al. (2011), ao elaborar bebidas isotônicas com adição de extrato antociânico de jabuticaba, encontrou valor de  $9,44\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ .

O teor de polifenóis totais encontrado neste estudo foi de  $267,55\text{mg AGE}\cdot\text{L}^{-1}$  para a bebida. Estupinã et al. (2011) caracterizaram bebidas isotônicas adicionadas de extratos em pó de antocianinas de *Andes Berry (Rubus glaucus Benth)*. Quanto a teores de fenólicos, esses autores obtiveram valores que variaram entre 89,9 e  $101,4\text{mg AGE}\cdot\text{L}^{-1}$  para amostra de bebida que continha carreador maltodextrina (MFDA) e sem carreador, respectivamente. Cipriano (2011), ao estudar os fenólicos totais na bebida isotônica com extrato antociânico da casca de jabuticaba, encontrou  $93,04\text{mg AGE}\cdot\text{L}^{-1}$ . Este estudo evidenciou como a bebida elaborada com extrato antociânico da casca da jabuticaba obteve valores elevados desse composto.

A atividade antioxidante da bebida apresentou valor de 2,72  $\mu\text{M Trolox. mL}^{-1}$  para o radical DPPD e 2,43  $\mu\text{M Trolox. mL}^{-1}$  para o radical ABTS. Valores elevados quando comparados com o de Cipriano (2011), o qual avaliou a atividade nas amostras de sua bebida isotônica formulada à base de extrato de jabuticaba pela metodologia  $\text{TEAC}_{\text{ABTS}}$ , obtendo valor de 0,84 $\mu\text{M Trolox. mL}^{-1}$ . Estupinã et al.(2011) também avaliaram a atividade antioxidante de bebidas isotônicas adicionadas de extratos em pó de antocianinas de *Andes Berry (Rubus glaucus Benth)*, utilizando diferentes metodologias de avaliação de atividade antioxidante. Pela metodologia  $\text{TEAC}_{\text{ABTS}}$ , esses pesquisadores encontraram valores que variaram entre 0,58  $\mu\text{M Trolox. mL}^{-1}$  e 0,99  $\mu\text{M Trolox. mL}^{-1}$ , para amostras de bebidas cujo extrato em pó não continha agente carreador e um que havia sido microencapsulado com carreador maltodextrina (MFDA), respectivamente.

Os valores de atividade antioxidante obtidos estão relacionados com a concentração dos compostos fenólicos e das antocianinas presentes na bebida, ou seja, há correlações positivas entre as atividades antioxidantes e os teores de antocianinas e fenólicos.

As análises realizadas demonstraram que a bebida isotônica, formulada com o permeado da ultrafiltração do leite e com o extrato da casca da jabuticaba, possui características relevantes que outras bebidas comercializadas não possuem, como propriedades bioativas, pigmento natural e cálcio em sua composição.

### **4.3. Estudo da estabilidade da bebida isotônica**

O desenvolvimento de um novo produto requer o estudo de sua estabilidade durante o armazenamento, visto que podem ocorrer alterações decorrentes de uma série de transformações químicas, físicas e microbiológicas. Para isso, foi desenvolvido um estudo a fim de verificar tais variações/alterações em amostras de bebidas isotônicas formuladas com permeado da ultrafiltração do leite adicionadas de um extrato antociânico extraído da casca de jabuticaba, em diferentes condições durante 60 dias de estocagem.

Não foi observado o efeito da exposição ou não da luz nas amostras de bebidas armazenadas a 4 °C e 25 °C durante estocagem por 60 dias ( $p > 0,05$ ) para medida de pH, acidez, osmolalidade e sólidos solúveis totais, que apresentaram valores médios de 3,54; 0,88% expresso em ácido cítrico; 308,78 mOsmL<sup>-1</sup>; e 5,78 °Brix, respectivamente.

Diferentemente, o tempo de estocagem afetou as variáveis pH, acidez, sólidos solúveis totais e osmolalidade ( $p < 0,05$ ), independentemente da condição de estocagem na presença ou ausência de luz e temperatura ambiente ou de refrigeração ( $p < 0,05$ ).

Entre as alterações físicas e químicas avaliadas, a osmolalidade teve um ligeiro aumento nos 60 dias avaliados, tendo um valor inicial médio de  $307,16 \text{ mOsmol}\cdot\text{L}^{-1}$  e um valor final médio de  $310,21 \text{ mOsmol}\cdot\text{L}^{-1}$ . Entretanto, esse aumento não descaracterizou o produto quanto a sua isotonicidade, uma vez que são consideradas bebidas isotônicas as soluções cuja concentração de moléculas (osmolalidade) é semelhante aos fluidos do corpo humano ( $280\text{-}340 \text{ mOsmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ). As análises de pH, acidez e sólidos solúveis totais obtiveram pequenas variações nos 60 dias analisados, apresentando a boa estabilidade do produto.

Houve efeito da exposição ou não à luz das amostras de bebidas armazenadas a  $4^\circ\text{C}$  e  $25^\circ\text{C}$  ( $p < 0,05$ ) sobre as coordenadas de cor. Na Tabela 4, encontram-se os valores médios das coordenadas de cor de amostras de bebidas estocadas em diferentes condições de luz e temperatura de armazenamento em 60 dias.

Tabela 4 – Média das coordenadas de cor de amostras de bebidas estocadas em diferentes condições de luz e temperatura de armazenamento em 60 dias

Condição	L*	a*	b*	h*	C*
Luz a $4^\circ\text{C}$	$41,60^A \pm 0,96$	$30,33^A \pm 1,83$	$16,55^A \pm 1,43$	$28,58^A \pm 0,81$	$34,56^A \pm 2,27$
Luz a $25^\circ\text{C}$	$48,18^B \pm 2,90$	$17,86^B \pm 7,84$	$18,44^{AB} \pm 2,03$	$47,98^B \pm 13,08$	$26,36^B \pm 5,34$
Ausência de luz a $4^\circ\text{C}$	$41,19^A \pm 1,15$	$31,12^A \pm 2,80$	$17,76^A \pm 1,58$	$29,79^A \pm 3,03$	$35,88^A \pm 2,69$
Ausência de luz a $25^\circ\text{C}$	$44,70^C \pm 2,18$	$26,49^C \pm 4,67$	$20,14^A \pm 1,22$	$37,76^C \pm 6,16$	$33,46^A \pm 3,27$

\* Os valores apresentados representam a média das três repetições  $\pm$  desvio-padrão. Letras maiúsculas diferentes para cada coordenada de cor na mesma coluna diferem entre si em nível de 5% de probabilidade pelo teste de tukey.

Pelos resultados obtidos, pode-se notar que, para todas as coordenadas de cor (L\*, a\*, b\*, C\* e h\*) para as bebidas armazenadas a  $4^\circ\text{C}$ , tanto na ausência como na presença de luz, essas não diferem entre si ( $p > 0,005$ ), enquanto as bebidas armazenadas a  $25^\circ\text{C}$  diferem entre si para as coordenadas L\*, a\*, h\* e C\*.

Durante a estocagem, foi possível perceber que as bebidas submetidas às quatro condições diferentes apresentaram valores positivos de \*a e b\*, isto é, entre as cores

amarela e vermelha. Os valores de luminosidade ( $L^*$ ) indicavam que as amostras apresentavam coloração clara. Notou-se pelo valor de  $C^*$  que a amostras expostas à luz à temperatura de 25 °C evidenciou saturação menor (cor menos intensa) do que as demais amostras, provando que essa coordenada é influenciada tanto pela luz quanto pela temperatura. É interessante observar que o valor  $h^*$  é mais influenciado pela temperatura, já que as amostras mantidas a 4 °C, independentemente da condição de exposição à luz, apresentaram valores próximos, indicando que essas demonstraram tom vermelho. As amostras mantidas a 25 °C em ausência de luz revelaram tonalidade mais próxima do alaranjado. Já as amostras que exibiram maior perda de coloração, expostas à luz a 25 °C, ao final dos 60 dias de armazenamento, encontravam-se com tonalidade laranja-claro, tendendo à amarela, como pode ser visto na Figura 7.

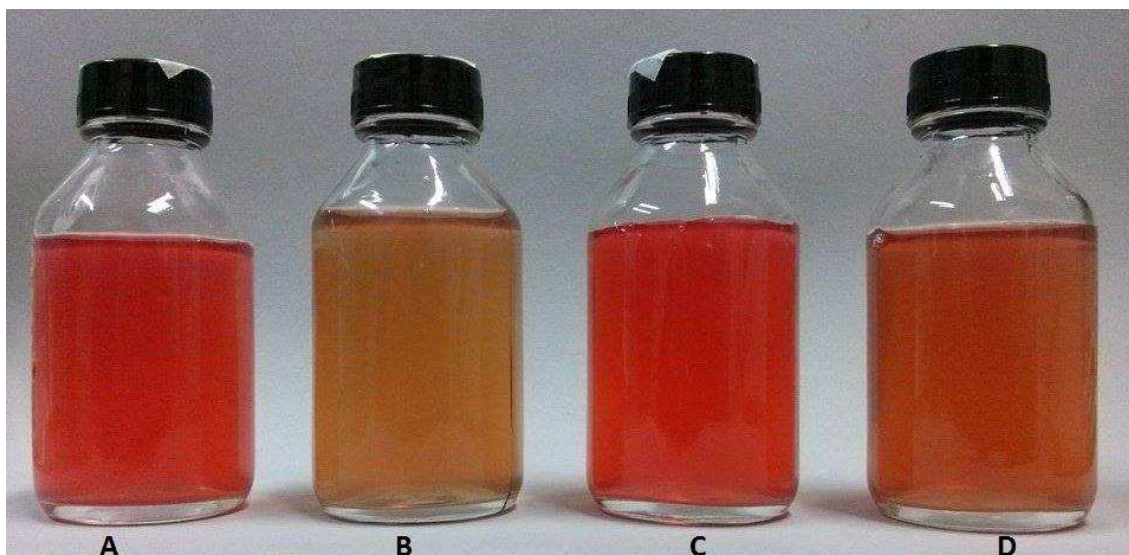


Figura 7 - Bebidas estocadas nas diferentes condições após um período de 60 dias de armazenamento. Presença de luz a 4 °C (A); presença de luz a 25 °C (B); ausência de luz a 4 °C (C); e ausência de luz a 25° C (D).

Em um processo degradativo ao longo do tempo, as antocianinas podem sofrer duas mudanças básicas quanto à sua coloração: a cor pode tornar-se gradativamente menos intensa, pela perda de saturação, e, ou, mudar de tonalidade, pela formação de compostos de degradação, resultando em cores diferentes da original (CONSTANT et al., 2003).

Maioli (2014) estudou as caracterizações física, química e sensorial de bebida energética armazenada durante 39 dias em condição refrigerada de 5 °C, temperatura

ambiente com médias de 25 °C e temperatura de estufa a 35 °C. Esses autores observaram que amostras estocadas na temperatura de 35 °C foi estatisticamente diferente das demais, evidenciando maior perda de luminosidade em relação à temperatura ambiente e à temperatura refrigerada, que são semelhantes. Em relação à análise de cada condição ao longo do tempo, foi verificada diminuição do valor L\* para todas as temperaturas, caracterizando a perda da luminosidade da bebida ( $P < 0,05$ ).

A variação das coordenadas de cor com o tempo de estocagem está representada na Figura 8.

Observaram-se, no armazenamento das bebidas durante 60 dias, as coordenadas de cor, que obtiveram variação significativa em todas as coordenadas (L\*, a\*, b\*, C\*, h\* e  $\Delta E$ ) ( $p < 0,05$ ).

Os valores de L\* aumentaram ( $p < 0,05$ ) para as amostras estocadas a 25 °C, ficando mais claras com o tempo de estocagem (Figura 8). Isso pode ser explicado pela instabilidade e sensibilidade das antocianinas à luz e às temperaturas mais elevadas, podendo ser rapidamente alteradas durante estocagem de alimentos (MALACRIDA, 2006). Aumentos nos valores de L\* já foram reportados por outros autores, como Cipriano (2011), no estudo de antocianinas de açaí e casca de jabuticaba na formulação de bebidas isotônicas; Estupinã et al. (2011), em pesquisa sobre estabilidade de bebida isotônica adicionada de extrato em pó antocianico de *Andes Berry*; e Cevallos-casals e Cisneros-zevallos (2004), em trabalho a respeito de milho roxo e batata doce de polpa vermelha, os quais indicaram que houve descoloração em razão da degradação das antocianinas.

Observou-se alteração significativa ( $p < 0,05$ ) no valor a\* para as amostras de bebidas expostas à luz, estocadas a 4 °C e 25 °C, e na ausência de luz, a 4 °C e 25 °C.

Todos os fatores (tipo de bebida, tempo, condições de estocagem e interação entre eles) influenciaram na variação do valor C\*, ( $p < 0,05$ ). Os valores de saturação (C\*) diminuíram ao longo do período de armazenamento, para todas as condições avaliadas. Essa diminuição foi mais acentuada na presença de luz, a 25 °C, o que evidenciou o efeito deletério da luz nas antocianinas. Sob refrigeração (4 °C), foi possível perceber que houve menor alteração.

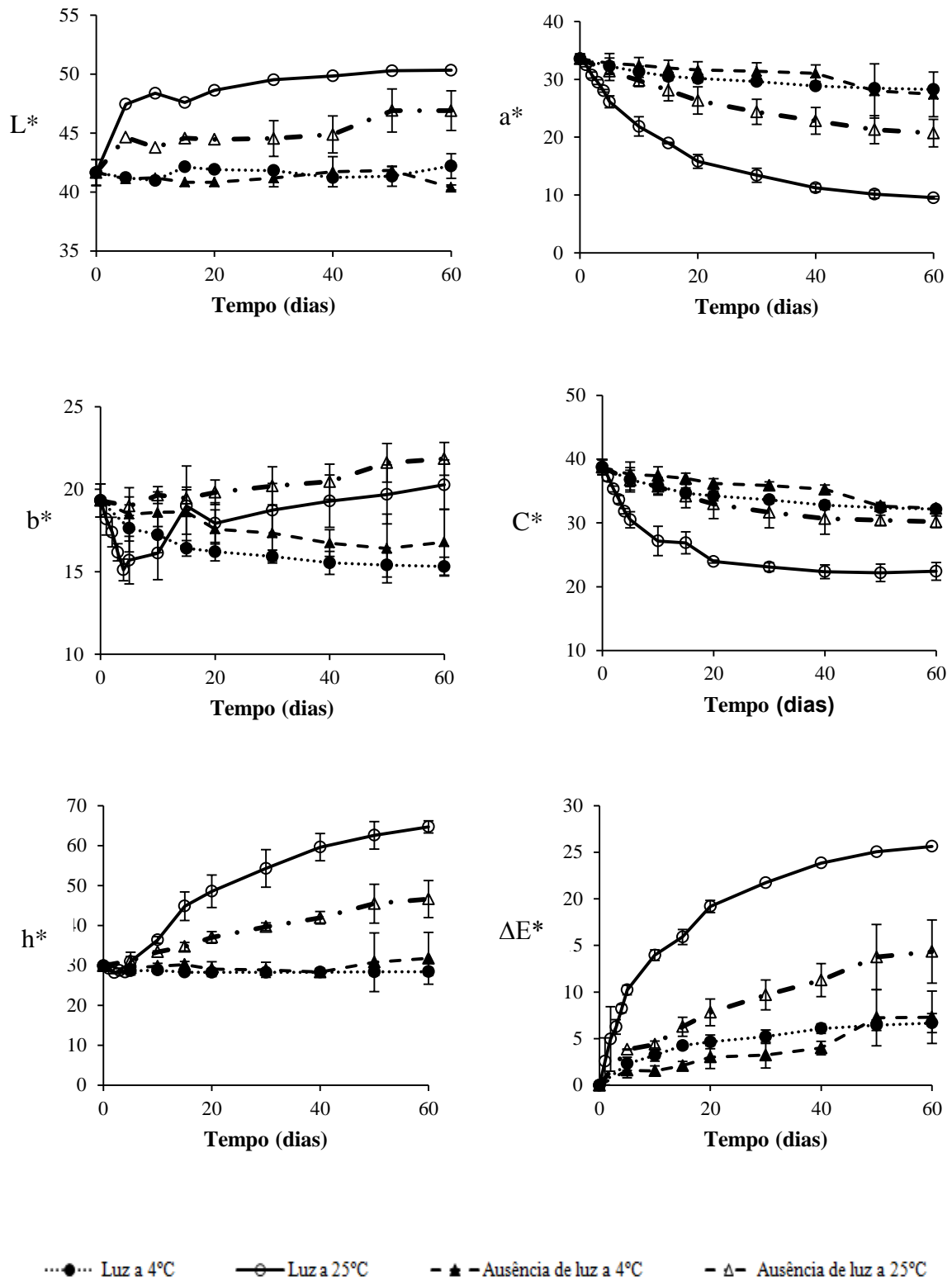


Figura 8 – Variação das coordenadas de cor de bebidas isotônicas formuladas com permeado da ultrafiltração de leite adicionado de extrato antociânico da casca da jabuticaba.

Esses resultados indicam que a bebida isotônica formulada neste trabalho obteve diminuição na intensidade da coloração vermelha (diminuição dos valores de  $C^*$ ) em razão da perda de antocianinas e formação de compostos de degradação, como a pseudobase incolor ou carbinol (CEVALLOS-CASALS; CISNEROS-ZEVALLOS, 2004).

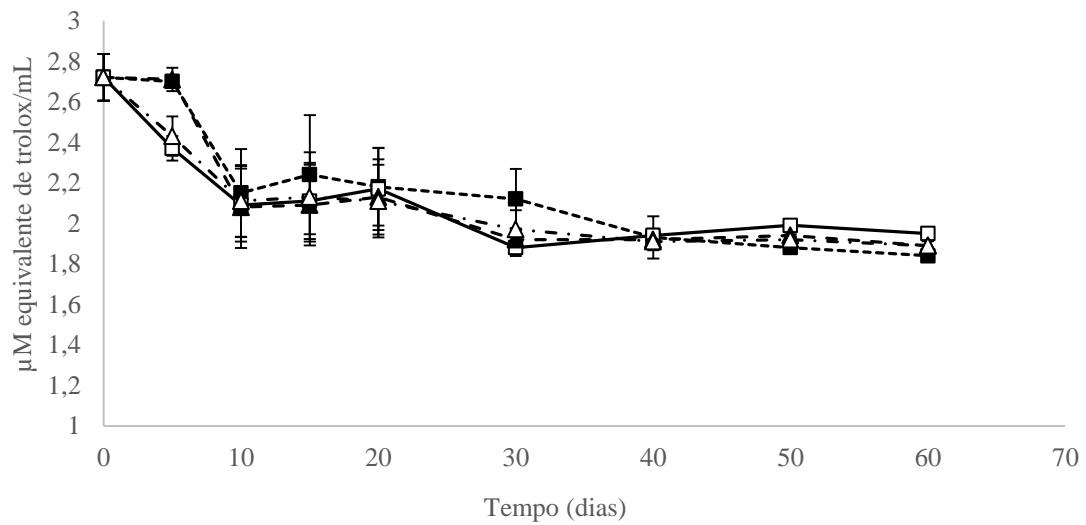
A tonalidade, representada pelo valor  $h^*$ , traduz a cor propriamente dita. Houve aumento nos valores de tonalidade ( $h^*$ ) para as bebidas, quando estocadas em presença de luz (25 °C). Entretanto, para as bebidas que foram estocadas à temperatura de 4 °C, exerceu pouca influência no valor  $h^*$ , ou seja, sob refrigeração (4 °C), as fontes de antocianinas mantiveram a tonalidade de cor constante ao longo do tempo (Figura 8). Os resultados encontrados neste estudo indicaram que houve mudança na tonalidade das cores das bebidas, principalmente quando estocadas em presença de luz a 25 °C.

Em relação à variável  $\Delta E^*$  (diferença global de cor), valores maiores que 5 podem ser facilmente detectáveis pelo olho humano, e valores acima de 12 implicam diferença de cor absoluta, perceptíveis até mesmo por julgadores não treinados. Para Schubring (1999), diferenças da ordem de 3 podem ser descritas como “muito pronunciadas”. Outros autores afirmaram, ainda, que limites inferiores a 1 (SCHUBRING, 1999) e 1,5 (STARK et al., 1996) não são perceptíveis pelo olho humano. Os valores encontrados para  $\Delta E^*$  (Figura 8) evidenciaram que a bebida isotônica armazenada a 25 °C na presença de luz, com 10 dias de armazenamento, obteve uma avaliação da diferença global de cor  $> 12$ , ou seja, facilmente perceptível. Já as bebidas armazenadas sob refrigeração (4 °C) na presença ou ausência de luz alcançaram valores menores do que 5.

Na Figura 9, representa-se a variação da atividade antioxidante pelo radical ABTS e DPPH em amostras de bebidas formuladas com permeado da ultrafiltração de leite adicionado de extrato antociânico de jabuticaba armazenadas sob diferentes condições de luz e temperaturas durante 60 dias.

Para medida de atividade antioxidante pelo radical DPPH e ABTS, observou-se que houve efeito significativo ( $p < 0,05$ ) do tempo. Na medida da atividade antioxidante utilizando o radical DPPH não houve efeito significativo ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos. Já a interação ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos e o tempo de estocagem houve efeito significativo tanto para o radical ABTS como para o radical DPPH.

(A)



(B)

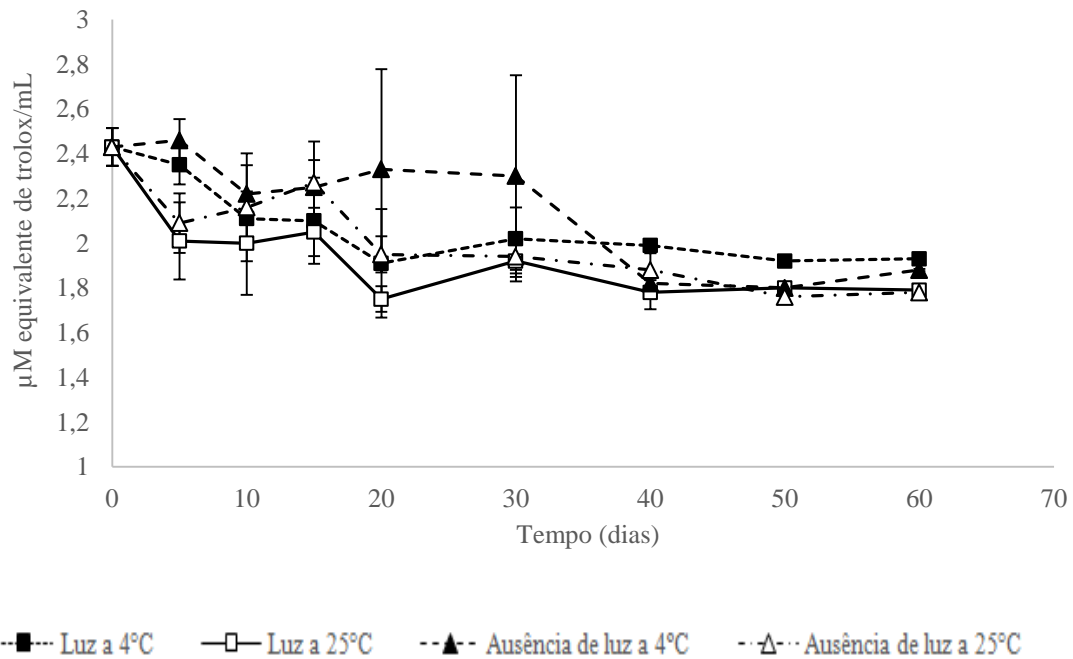


Figura 9 - Variação da atividade antioxidante pelo radical DPPH (A) e ABTS (B) em amostras de bebidas isotônicas armazenadas sob diferentes condições de luz e temperatura durante 60 dias.

É possível perceber que a atividade antioxidante da bebida oscilou bastante no início do armazenamento em todas as condições estudadas e logo após 30 dias ficou praticamente estável independente das condições estudadas. Esses resultados de atividade antioxidante refletem adequadamente os resultados obtidos quanto aos

polifenóis totais no período estudado, como pode ser observado na Figura 10A, em que os teores de fenólicos também diminuíram durante o tempo de estocagem.

Para a análise de polifenóis totais ao longo da estocagem por 60 dias sob diferentes condições, foi possível perceber que houve efeito significativo ( $p < 0,05$ ) apenas no tempo de estocagem das bebidas, apresentando que a luz e a temperatura não são fatores determinantes que afetam a estabilidade de polifenóis. Segundo Menezes (1994), a redução desses compostos pode ser em razão dos processos de complexação e polimerização de taninos. Na Figura 10 A, está representado a variação de polifenóis totais durante 60 dias de estocagem sob exposição ou não a luz das amostras de bebidas armazenadas a 4 °C e 25 °C. Observou-se que em alguns pontos há elevação no teor de polifenóis totais. Segundo Sellappan et al. (2002), esse fato pode ter ocorrido em decorrência de reações de copigmentação ocorridas durante o armazenamento.

Pelo comportamento das curvas representadas na Figura 10 B, é possível observar com mais clareza que houve degradação significativa das antocianinas para todos os tratamentos avaliados ( $p < 0,05$ ), sendo mais acentuado nas amostras estocadas a 25 °C em presença de luz.

É interessante notar que o decaimento no teor de antocianinas totais é condizente com o decaimento de saturação ( $C^*$ ) das bebidas isotônicas expostas a diferentes condições de armazenamento, reforçando o fato de que as antocianinas estão diretamente relacionadas com a pigmentação final do produto.

O teor médio inicial de antocianinas totais na bebida foi de 15,98 mg·L<sup>-1</sup>. Portanto, a condição de estocagem a 4 °C em ausência de luz foi a que apresentou a menor degradação de antocianinas totais em relação à quantidade inicial, o que colabora na conclusão de que essa condição foi a melhor dentre as demais. É possível observar que houve diferença significativa no teor final de antocianinas, quando as bebidas foram expostas à temperatura de 25 °C e às condições de luz diferentes, bem como quando as condições de exposição à luz foram iguais e à de temperatura diferente.

As bebidas estocadas a 25 °C em presença de luz apresentaram maior degradação de compostos antociânicos, visto que essas apresentaram redução de 86,23% do teor total de antocianinas. Isso evidencia que a presença de luz e a temperatura mais elevada (25 °C), atuando em conjunto, possuem efeito altamente deletério sobre as antocianinas; entretanto, se apenas a temperatura for reduzida até níveis de refrigeração a 4° C ou o armazenamento for feito em ausência de luz, torna-se possível amenizar esse efeito.

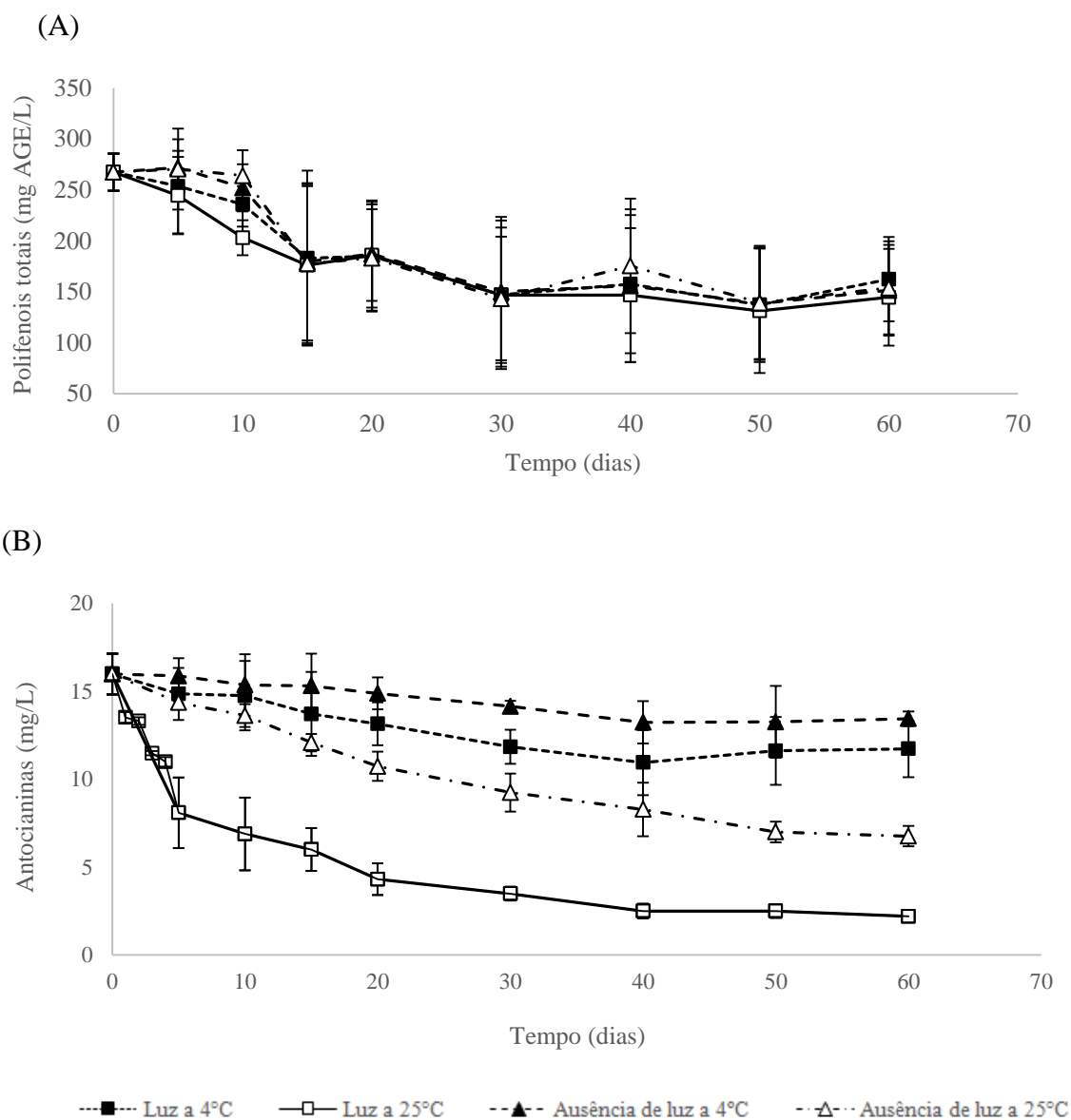


Figura 10 - Variação de polifenóis totais (A) e das antocianinas totais (B) em amostras de bebidas isotônicas armazenadas sob diferentes condições de luz e temperaturas, durante 60 dias.

Cipriano et al. (2011) também avaliaram a estabilidade de antocianinas em bebidas isotônicas elaboradas com extrato da casca de jabuticaba, a 25 °C em presença de luz. Esses autores perceberam que essa estabilidade obteve 69,19% de redução em relação ao teor inicial nos 63° dias de estocagem e em refrigeração a 4°C, obtendo diminuição de 5,91%.

Na Tabela 5, encontram-se os resultados do efeito de luz e temperatura de estocagem sobre a concentração de antocianinas totais, polifenóis totais e atividade

antioxidante pelos radicais ABTS e DPPH nas amostras de bebidas formuladas com permeado da ultrafiltração de leite adicionada de extrato antociânico de jabuticaba.

Tabela 5 - Valores médios (desvio-padrão) da concentração de antocianinas totais, polifenóis totais e atividade antioxidante pelos radicais ABTS e DPPH em amostras de bebidas estocadas em diferentes condições de luz e temperatura de armazenamento, em 60 dias.

Condição	Antocianinas (mg·L <sup>-1</sup> )	Polifenóis (mg AGE/L)	ABTS (μM trolox/mL)	DPPH (μM trolox/mL)
Luz a 4 °C	13,17 <sup>AB</sup> ± 2,19	192,12 <sup>A</sup> ± 1,83	2,08 <sup>AB</sup> ± 1,43	2,19 <sup>A</sup> ± 0,81
Luz a 25 °C	5,77 <sup>C</sup> ± 4,30	186,18 <sup>A</sup> ± 7,84	1,94 <sup>B</sup> ± 2,03	2,13 <sup>A</sup> ± 13,08
Ausência de luz a 4 °C	14,60 <sup>A</sup> ± 1,52	194,89 <sup>A</sup> ± 2,80	2,16 <sup>A</sup> ± 1,58	2,15 <sup>A</sup> ± 3,03
Ausência de luz a 25 °C	10,89 <sup>B</sup> ± 3,27	197,18 <sup>A</sup> ± 4,67	2,02 <sup>AB</sup> ± 1,22	2,13 <sup>A</sup> ± 6,16

Letras maiúsculas diferentes na coluna diferem entre si em nível de 5% de probabilidade pelo teste de tukey.

Pelos resultados apresentados na Tabela 5, foi possível observar que a bebida armazenada na ausência de luz a 4 °C foi a condição que houve menor perda de antocianinas ao longo do tempo de armazenagem de 60 dias, não diferindo da bebida armazenada na presença de luz a 4 °C. Já a bebida armazenada na presença de luz a 25 °C foi a que sofreu maior degradação das antocianinas, se diferindo de todas as outras condições. Não houve diferença entre as condições das bebidas para análise de polifenóis totais.

Em relação à atividade antioxidante pelo radical ABTS, as bebidas armazenadas na presença de luz a 4 °C não se diferiram das amostras armazenadas na ausência de luz a 25 °C. Já as bebidas estocadas na presença de luz a 25 °C diferenciaram-se das conservadas na ausência de luz a 4 °C. Pelo radical DPPH, não houve diferença em nenhuma das quatro condições avaliadas, ou seja, as bebidas guardadas sob diferentes condições não se diferem entre si, em nível de 5% de probabilidade pelo teste de tukey.

Foi feito um estudo cinético em que foi estimada a taxa de alteração ( $k$ ) e o tempo de meia-vida ( $t_{1/2}$ ), como representado na Tabela 6.

Tabela 6 - Estimativa dos coeficientes cinéticos para alterar a cor (valor  $a^*$  e  $C^*$ ) de antocianinas totais de bebidas isotônicas, em diferentes condições de armazenamento durante 60 dias.

Variável	Condição	$C_0$	$k \times 10^{-2}$ (dias <sup>-1</sup> )	$t_{1/2}$ (dias)	$R^2$
Valor $a^*$	Luz a 4 °C	32,41	0,265	261,66	0,894
	Luz a 25 °C	29,87	2,225	31,15	0,939
	Ausência de luz a 4 °C	33,67	0,315	219,84	0,901
	Ausência de luz a 25 °C	32,20	0,814	85,57	0,969
Valor $C^*$	Luz a 4 °C	37,04	0,278	249,06	0,865
	Luz a 25 °C	33,47	0,884	78,39	0,780
	Ausência de luz a 4 °C	38,59	0,292	237,38	0,949
	Ausência de luz a 25 °C	37,01	0,409	169,60	0,890
Antocianinas totais	Luz a 4 °C	15,12	0,570	121,56	0,803
	Luz a 25 °C	12,15	3,418	20,27	0,901
	Ausência de luz a 4 °C	15,93	0,351	197,45	0,908
	Ausência de luz a 25 °C	15,28	1,494	46,37	0,978

$t_{1/2}$ : tempo requerido para redução de 50% do valor inicial (dias);  $k$ : constante de alteração (dias<sup>-1</sup>); e  $C_0$ : Concentração/valor inicial.

Pelos valores iniciais do valor  $a^*$ , que está dentro da faixa de tonalidade vermelha, observou-se que a taxa de alteração do valor  $a^*$  é muito maior para a amostra que foi estocada na presença de luz em temperatura ambiente (25 °C). Entretanto, para as amostras de bebidas que foram estocadas na temperatura de 4 °C, tanto na presença ou na ausência de luz, os valores da taxa de degradação foram bem próximos, e seriam necessários aproximadamente 219 dias, cerca de sete meses, para que houvesse redução de 50% no valor da coordenada  $a^*$  para a bebida armazenada na ausência de luz a 4 °C. No entanto, para a amostra estocada na presença de luz a 25 °C, seriam necessários aproximadamente 31 dias, pouco mais de um mês, para que houvesse essa mesma redução no valor de  $a^*$ .

O comportamento de  $C^*$  (saturação) das bebidas foi similar aos valores de  $a^*$ . Houve uma taxa de degradação maior para as bebidas armazenadas na presença ou ausência de luz a 25 °C. Já as bebidas guardadas sob refrigeração a 4 °C, independentemente da ausência ou presença de luz, obteve-se uma taxa de degradação próxima, sendo necessários aproximadamente 237 dias para reduzir em 50 % o valor de  $C^*$ , para as bebidas estocadas na ausência de luz na temperatura de 4 °C.

A temperatura e a luz contribuíram significativamente ( $p < 0,05$ ) para reduzir o conteúdo de antocianinas durante o armazenamento, tendo em vista que a taxa de degradação das bebidas estocadas à temperatura ambiente (25°C) foram maiores que a das bebidas estocadas sob refrigeração (4°C). Em presença de luz a 25 °C e a 4 °C, são necessários aproximadamente 20 dias e 121 dias, respectivamente, para que houvesse redução de 50% no valor de antocianinas. É conhecido que as antocianinas são rapidamente destruídas pelo calor durante o processamento e estocagem dos alimentos. Os mecanismos de degradação térmica estão relacionados com a clivagem do anel heterocíclico da pseudobase com formação da chalcona, e posterior formação de produtos derivados de coloração marrom. (SCHWARTZ et al., 2010).

Segundo Malacrida et al. (2006), a hidrólise glicosídica das antocianinas é proporcional à velocidade de perda da cor vermelha. Logo é possível que esse pigmento natural tenha sofrido essa hidrólise ao longo do tempo. A cor amarelada das bebidas expostas à luz pode ser explicada pela coloração resultante dos compostos oriundos da degradação das antocianinas, bem como da coloração resultante da degradação fotoquímica da riboflavina, visto que, apesar de esta ser estável a altas temperaturas, apresenta grande sensibilidade à luz.

#### **4.4. Avaliação microbiologia da bebida isotônica durante estocagem**

O permeado utilizado para a produção da bebida já é, por si só, praticamente estéril. Na elaboração da bebida isotônica, foi aplicado um tratamento térmico (pasteurização lenta). Esses fatores contribuíram para baixa contaminação, mesmo se tratando de um derivado lácteo.

Na Tabela 7, encontram-se os valores obtidos para as contagens microbiológicas de mesófilos aeróbios, psicrotróficos, fungos filamentosos e leveduras e pesquisa de presença de *salmonella*, além do número mais provável de coliformes a 35 °C, para as bebidas isotônicas à base de permeado da ultrafiltração, estocadas nas temperaturas de 4 °C e 25 °C na presença e ausência de luz, no dia de fabricação, 30 dias e 60 dias após o processamento.

Observou-se que a bebida não apresentou contagem microbiológica, em todas as condições analisadas. O número mais provável de coliformes obteve valor  $< 3$  desse microrganismo, indicando ótima qualidade microbiológica da bebida.

A resolução RDC 12 da ANVISA (2001) não estabelece padrões microbiológicos para repositores hidroeletrólitos. Para sucos, refrescos, refrigerantes e

bebidas não alcoólicas, a resolução recomenda que o produto apresente ausência de coliformes a 35 °C NMP mL<sup>-1</sup>, para amostra indicativa, o que está condizente com o resultado obtido.

A Portaria 451 do Ministério da Saúde, de 19 de setembro de 1997 (BRASIL, 1997), especifica contagens de fungos filamentosos e leveduras para sucos, refrescos, refrigerantes e bebidas não alcoólicas (exceto derivados lácteos) entre 10<sup>2</sup> e 10<sup>4</sup> UFC mL<sup>-1</sup>, indicando que a bebida, apesar de apresentar base láctea, não apresentou contaminação por fungos filamentosos e leveduras, uma vez que não houve crescimento desse microorganismo durante todo o período de estocagem a 4 °C e 25 °C na presença e ausência de luz.

Gonçalves et al. (2012) estudaram a estabilidade microbiológica de bebidas isotônicas elaboradas com suco concentrado congelado de frutas e hortaliças por 30 dias. As contagens de mesófilos aeróbios apresentaram-se elevadas, com valores acima de 10<sup>6</sup>. As contagens de fungos filamentosos e leveduras obtidas por esses autores foram baixa, menores que 1 UFC mL<sup>-1</sup>. Esses autores também encontraram ausência para o número mais provável de coliformes a 35 °C e para *Salmonella* spp., assim como no estudo abordado.

O não crescimento de microrganismos na bebida isotônica se deve a três fatores: não houve contaminação inicial da bebida, resultado do permeado praticamente estéril e da pasteurização da bebida; o baixo valor de pH, de apenas 3,56, que desfavorece o crescimento de vários microrganismos, principalmente bactérias; e a adição de conservantes que retardam o crescimento de microrganismos.

De fato, as contagens de mesófilos aeróbios, psicrotróficos, fungos filamentosos e leveduras não sofreram alterações durante o período de armazenamento, indicando não ter ocorrido multiplicação desses microrganismos. Portanto, as boas práticas de fabricação, com higiene e assepsia adequadas, devem estar presentes durante todo o processo de produção da bebida.

Tabela 7 - Contagens microbiológicas de mesófilos aeróbios, fungos filamentosos e leveduras, psicrotróficos, coliformes a 35 °C e pesquisa de *salmonella* spp. em amostras de bebida isotônica

Microrganismo	Tempo (dias)	Condição			
		Luz a 4 °C	Luz a 25 °C	Ausência luz a 4 °C	Ausência luz a 25 °C
<b>Mesófilos aeróbios, UFC mL<sup>-1</sup></b>	0	< 1,0 x 10 <sup>1</sup>	< 1,0 x 10 <sup>1</sup>	< 1,0 x 10 <sup>1</sup>	< 1,0 x 10 <sup>1</sup>
	30	< 1,0 x 10 <sup>1</sup>	< 1,0 x 10 <sup>1</sup>	< 1,0 x 10 <sup>1</sup>	< 1,0 x 10 <sup>1</sup>
	60	< 1,0 x 10 <sup>1</sup>	< 1,0 x 10 <sup>1</sup>	< 1,0 x 10 <sup>1</sup>	< 1,0 x 10 <sup>1</sup>
<b>Psicrotróficos, UFC mL<sup>-1</sup></b>	0	< 1,0 x 10 <sup>1</sup>	< 1,0 x 10 <sup>1</sup>	< 1,0 x 10 <sup>1</sup>	< 1,0 x 10 <sup>1</sup>
	30	< 1,0 x 10 <sup>1</sup>	< 1,0 x 10 <sup>1</sup>	< 1,0 x 10 <sup>1</sup>	< 1,0 x 10 <sup>1</sup>
	60	< 1,0 x 10 <sup>1</sup>	< 1,0 x 10 <sup>1</sup>	< 1,0 x 10 <sup>1</sup>	< 1,0 x 10 <sup>1</sup>
<b>Fungos filamentosos e leveduras, UFC mL<sup>-1</sup></b>	0	< 1,0 x 10 <sup>1</sup>	< 1,0 x 10 <sup>1</sup>	< 1,0 x 10 <sup>1</sup>	< 1,0 x 10 <sup>1</sup>
	60	< 1,0 x 10 <sup>1</sup>	< 1,0 x 10 <sup>1</sup>	< 1,0 x 10 <sup>1</sup>	< 1,0 x 10 <sup>1</sup>
<b>Coliformes a 35 °C, NMP mL<sup>-1</sup></b>	0	< 3	< 3	< 3	< 3
	30	< 3	< 3	< 3	< 3
	60	< 3	< 3	< 3	< 3
<b>Pesquisa de presença em <i>Salmonella</i> spp. em 25mL</b>	0	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência
	30	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência
	60	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência

A atividade do ácido benzoico e seus sais derivados é efetiva em alimentos com pH entre 2,5 e 4,0 (ARAÚJO, 2011). Pode-se notar, então, que os conservantes adicionados possuem atividade efetiva na bebida isotônica, que apresentou pH em torno de 3,56, impossibilitando o crescimento de fungos filamentosos e leveduras nos 60 dias de estocagem em que foi analisado.

Para um alimento com valor de pH baixo, como encontrado para a bebida isotônica elaborada, a necessidade de se utilizarem conservantes químicos pode ser questionada, uma vez que o número de microrganismos capazes de crescer e se multiplicarem nesse valor de pH é bastante reduzido. Entretanto, estudos adicionais devem ser realizados para verificar ou não a necessidade desses.

Avaliando os resultados alcançados para as bebidas armazenadas em temperatura ambiente e de refrigeração na presença de luz, concluiu-se que o aspecto microbiológico não representou fator determinante na vida de prateleira do produto durante o período nas condições estudadas e nem evidenciaram diferenças microbiológicas entre as duas temperaturas de estocagem, indicando que a bebida poderia ser armazenada em temperatura ambiente sem perdas na conservação do produto.

## **4.5. Análise sensorial**

### **4.5.1. Teste de aceitação da bebida isotônica**

A avaliação da aceitação de um produto pelo consumidor é um ponto primordial em seu desenvolvimento. Essa bebida isotônica elaborada precisa de boa aceitação pelo consumidor para possibilitar seu lançamento no mercado.

O resultado referente à análise sensorial com aplicação de teste de aceitação para diferentes atributos (cor, sabor, aroma e impressão global) formulados com permeado da ultrafiltração de leite adicionado de extrato antociânico da casca da jabuticaba e aromatizante natural de frutas vermelhas e goiaba encontra-se na Tabela 8.

A análise de aceitabilidade demonstrou que a bebida isotônica teve boa aceitação por parte dos potenciais consumidores, os praticantes de exercícios físicos. Para os atributos de cor, sabor, aroma e impressão global, a formulação da bebida com aroma de goiaba situou-se entre as notas 6, “gostei ligeiramente”, e 7, “gostei moderadamente”. Já para as bebidas adicionadas de aroma de frutas vermelhas, os mesmos atributos citados anteriormente obtiveram notas entre 7, “gostei

moderadamente”, e 8, “ gostei muito”(Tabela 9). Para todos os atributos cor, sabor, aroma e impressão global houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre a bebida formulada com o aroma de frutas vermelhas e a com o aroma de goiaba ( $p < 0,05$ ).

Tabela 8 - Valor médio (desvio-padrão) das notas da bebida isotônica formulada com dois aromatizantes

Formulação	Atributos			
	Cor	Sabor	Aroma	Impressão global
Aroma de goiaba	6,88 <sup>A</sup> ± 1,31	6,85 <sup>A</sup> ± 1,38	6,64 <sup>A</sup> ± 1,61	6,92 <sup>A</sup> ± 1,27
Aroma de frutas vermelhas	7,22 <sup>B</sup> ± 1,21	7,49 <sup>B</sup> ± 1,17	7,25 <sup>B</sup> ± 1,23	7,48 <sup>B</sup> ± 1,13

Os valores apresentados representam a média de 100 julgadores ± desvio-padrão.

Petrus e Faria (2005) encontraram nota 7,1, para a bebida isotônica preparada convencionalmente dois dias após do processamento; e 6,6 e 6,4, após 16 e 26 semanas de estocagem, respectivamente. Cipriano (2011) encontrou pontuação de 6,86 para bebida isotônica adicionada de extrato de casca de jabuticaba. Observou-se que a média das notas obtida para a bebida isotônica elaborada se encontra próxima das médias das bebidas elaboradas pelos autores citados.

Considerando que neste trabalho a matéria-prima utilizada trata-se de um subproduto da indústria láctea – comumente descartado em efluentes, surtindo efeitos prejudiciais ao meio ambiente –, e apresenta como objetivo o desenvolvimento de um produto que proporcione o aproveitamento e a transformação de um resíduo em coproduto industrial, a bebida apresentou boa aceitação pelos consumidores, constituindo um produto atrativo para fabricação em larga escala.

Segundo Teixeira et al. (1987), para que o produto seja considerado aceito, em termos de suas propriedades sensoriais, é necessário que esse obtenha um Índice de Aceitabilidade (IA) de, no mínimo, 70%, o que pôde ser verificado nas duas formulações avaliadas, já que apresentaram IA superior ao mínimo estabelecido para todos os atributos avaliados (Tabela 9).

Tabela 9 – Índice de aceitabilidade para as diferentes formulações de bebidas isotônicas

Formulação	Índice de aceitabilidade (%)			
	Cor	Sabor	Aroma	Impressão global
Aroma de goiaba	76,4	76,1	73,8	76,8
Aroma de frutas vermelhas	80,2	83,2	80,6	83,1

Considera-se que, ao se desenvolver um novo produto, um dos pontos fundamentais é avaliar sua aceitabilidade, a fim de predizer seu comportamento frente ao mercado consumidor (MOSCATTO; PRUDÊNCIO-FERREIRA; HAULY, 2004). Com base nas médias das notas para a aceitabilidade e no valor do IA, pôde-se verificar que todas as bebidas apresentaram boa aceitabilidade.

#### 4.5.2. Intenção de Compra

A partir de um formulário previamente estabelecido, conforme representado na Figura 8, o perfil de possíveis consumidores de bebidas isotônicas foi elaborado, tendo como base os praticantes de exercícios físicos em uma academia localizada em Viçosa, MG.

Na entrevista, foram abordadas características dos possíveis consumidores, como sexo, faixa etária, afinidade por bebidas isotônicas, frequência de consumo desse produto, sabores preferidos e expectativas do consumidor em relação a uma bebida isotônica.

Dos 100 julgadores que foram solicitados a participar voluntariamente da análise sensorial da bebida isotônica, 66% eram do sexo masculino; e 34%, do feminino. Desses, 62% possuíam idade entre 20 e 29 anos; 15% abaixo de 20 anos; 12% entre 30 e 39 anos; e 11% possuíam idade acima de 40 anos.

Nas Figuras 11 e 12, representa-se o resultado obtido quanto à afinidade por bebidas isotônicas e à frequência de consumo, respectivamente.

Os resultados evidenciaram que grande parte dos entrevistados gosta de bebidas isotônicas: aproximadamente 57% gostam moderadamente; e 17% gostam muito. Quanto à frequência de consumo, apesar de muitos entrevistados consumirem o produto menos de uma vez por mês, aproximadamente 74 % consomem bebidas isotônicas pelo menos uma vez por mês; e 5 % consomem até mesmo mais de uma vez por semana.

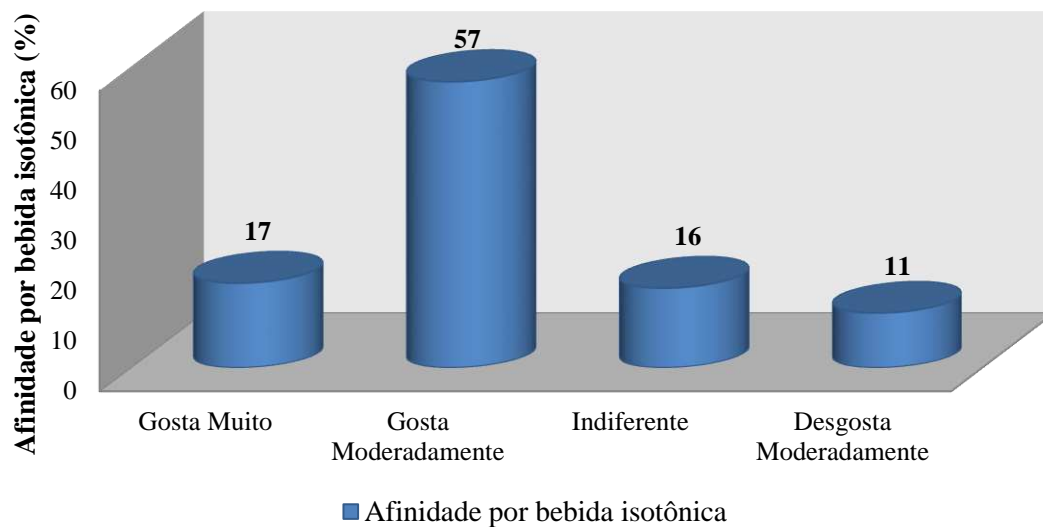


Figura 11 - Afinidade por bebidas isotônicas pelos provadores.

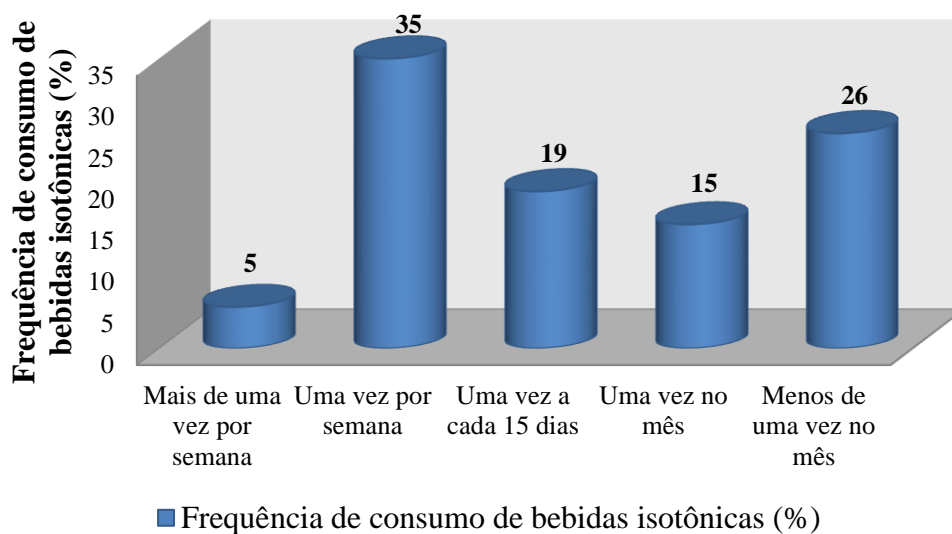


Figura 12 - Resultado do teste de aceitação para a frequência com que os entrevistados consomem bebidas isotônicas.

Esses resultados demonstraram que há grande mercado potencial para bebidas isotônicas, e que a bebida elaborada possui um mercado consumidor bastante atrativo.

Na Figura 13, evidencia-se o resultado obtido quanto à preferência de sabores e à expectativa do consumidor em relação a uma nova bebida isotônica.

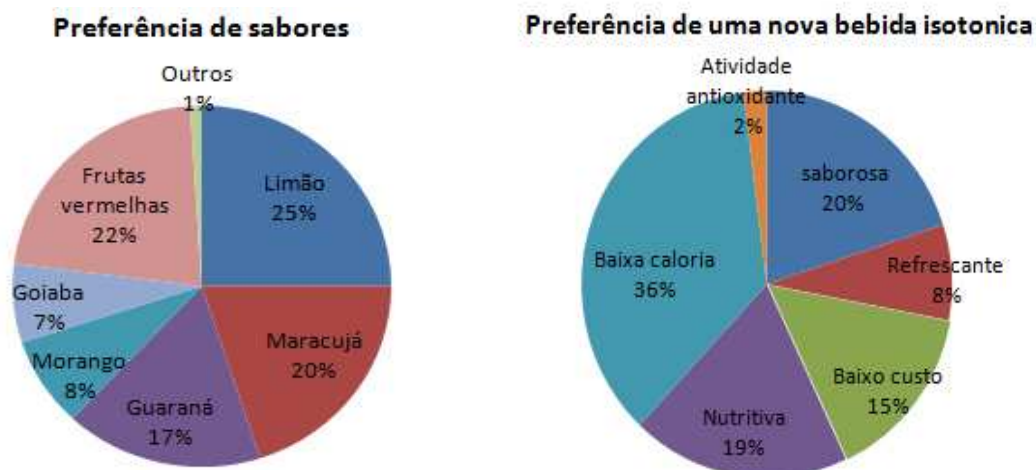


Figura 13 - Resultado do teste de aceitação para a preferência de sabores e a expectativa do consumidor em relação a uma nova bebida isotônica.

Pelos resultados, a preferência de sabores dos consumidores que participaram da pesquisa por bebidas isotônicas é pelo sabor de limão, seguida pelo de frutas vermelhas e maracujá. Esses consumidores esperam que essa bebida tenha baixa caloria, seja saborosa e nutritiva.

## 5. CONCLUSÃO

O conhecimento das características físicas e químicas do permeado e da bebida isotônica foi fundamental para confirmar que o permeado da ultrafiltração pode ser utilizado como base para elaboração de bebidas isotônicas.

A casca de jabuticaba apresentou ser boa fonte de antocianinas e compostos fenólicos, evidenciando elevada atividade antioxidante, o que justifica a sua utilização como corantes naturais em alimentos, como em bebidas isotônicas.

O estudo da estabilidade foi de extrema relevância, uma vez que houve variações das características bioativas (compostos fenólicos, antocianinas, atividade antioxidante) e das coordenadas de cor da bebida durante o período de estocagem de 60 dias. As condições de armazenamento afetaram a estabilidade das bebidas isotônicas adicionadas de extratos de antocianinas, e a refrigeração a 4 °C e ausência de luz demonstrou ser a condição mais eficiente no armazenamento dessas bebidas, em relação a todas as variáveis avaliadas (antocianinas totais, fenólicos totais, atividade antioxidante e coordenadas de cor).

O teste de aceitabilidade da bebida isotônica apresentou que o produto foi bem aceito por seu público-alvo consumidor, ou seja, os praticantes de exercícios físicos. A pesquisa de mercado, juntamente com a análise sensorial, evidenciou um público consumidor de grande potencial, disposto a consumir bebidas isotônicas. Portanto, esse produto é considerado promissor para o mercado, pelas características bioativas como compostos fenólicos, atividade antioxidante, antocianinas e por apresentar constituintes naturais do permeado de leite.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABE, L. T.; LAJOLO, F. M. L.; GENOVESE, M. I.(2012). Potential dietary sources of ellagic acid and other antioxidants among fruits consumed in Brazil: Jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 92, 1679–1687.

AFONSO, M. D.; PINHO, M. N. Mass transfer modeling for salt transport in amphoteric nanofiltration membranes. **Journal of Industrial & Engineering Chemistry Research, Washington**, Vol. 37, n.10, p.4118-4127, 1998.

AFONSO, M. D.; PINHO, M. N. Transport of MgSO<sub>4</sub>, MgCl<sub>2</sub>, and Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> across an amphoteric nanofiltration membrane.**Journal of Membrane Science, Westlake**, Vol. 179, p.137-154, 2000.

AGATI, G.; MEYER, S.; MATTEINI, P.; CEROVIC, Z.G. Assessment of anthocyanins in grape (*Vitis vinifera* L.) berries using a noninvasive chlorophyll fluorescence method. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 1053-1061, 2007.

ALMEIDA-DORIA, R.F.; REGITANO-D'ARCE, A.B. Antioxidant activity of Rosemary and oregano ethanol extracts in soybean oil under thermal oxidation. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.20, n.2, p.197-203, 2000.

ALONSO, A.M.; DOMINGUEZ, C.; GUILLEN, D.A.; BARROSO, C.G. Determination of antioxidant power of red and white wines by a new electrochemical method as its correlation with phenolic content. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 3112-3115, 2002.

ALVES, C. C. O.; RESENDE, J. V.; CRUVINEL, R. S. R.; PRADO, M. E. T.Estabilidade da microestrutura e do teor de carotenóides de pós obtidos da polpa de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) liofilizada. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, p. 830-839, 2008.

AMBEV E COCA AGITAM MERCADO DE ISOTÔNICOS. Brasil econômico, 2015.Disponível em: <http://brasileconomico.ig.com.br/negocios/2014-09-15/amb-ev-coca-agitam-mercado-de-isotonicos.html>. Acesso em: 02 de outubro de 2015.

ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos:uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 66, n. 1, p. 232-240, 2007.

ANTOLOVICH, M.; PRENZLER, P.D.; PATSALIDES, E.; MCDONALD, S.; ROBARDS, K. Methods for testing antioxidant activity. **The Analyst**, v. 127, p. 183-198, 2002.

ANVISA (AGÊNCIA DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA): Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Disponível em: [http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/a47bab8047458b909541d53fbc4c6735/RDC\\_12\\_2001.pdf?MOD=AJPERES](http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/a47bab8047458b909541d53fbc4c6735/RDC_12_2001.pdf?MOD=AJPERES). Acesso em: 01Fev. 2016.

AOAC. Official methods of analysis of the **Association of Official nalyticalChemists International**. 16. ed. Washington: AOAC, v. 2, 1997.

ARAGÃO, W. M.; ISBERNER, I. V.; CRUZ, E. M. O. **Água-de-coco**. Aracaju: Embrapa CPATC/ Tabuleiros Costeiros, 2001. (Série Documentos 24).

ARAÚJO, J.M.A. **Química de Alimentos: teoria e prática**. 5ª Edição. Viçosa: UFV, 2011.

ARAÚJO, P. F.; RODRIGUES, R. S.; MACHADO, A. R.; SANTOS V. S.; SILVA J. A. Influência do congelamento sobre as características físico-químicas e o potencial antioxidante de néctar de amora-preta. **B.CEPPA**, v. 27, n. 2, p. 199-206, 2009.

ARTS, M.J.T.J.; DALLINGA, J.S.; VOSS, H.-P.; HAENEN, G.R.M.M.; BAST, A. A critical appraisal of the use of the antioxidant capacity (TEAC) assay in defining optimal antioxidant structures. **Food Chemistry**, v. 80, p. 409-414, 2003.

AURELIO, D.L.; EDGARDO, R. G.; NAVARRO-GALINDO, S. Thermal kinetic degradation of anthocyanins in a roselle (*Hibiscus sabdariffa* L. cv. .Criollo.) infusion. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 43, p. 322-325, 2008.

BALDASSO, C.; BARRO, T.C.; TESSARO, L.C. Concentration and purification of whey proteins by ultrafiltration. **Desalination**, v.278, p.381-386, 2011.

BARROS, R.S; FINGER, F.L; MAGALHÃES, M.M. **Changes in non-structural carbohydrates in developing fruit of *Myrciaria jaboticaba*** *Scientia Horticulturae*, v. 66, n. 3-4, p. 209-215,1996.

BECKER, E.M.; NISSEN, L.R; SKIBSTED, L.H. Antioxidant evaluation protocols: Food quality or health effects. **European Food Research and Technology**, v. 219, p. 561–571, 2004.

BENITO,J.J.S. Processamento de leite desnatado por ultrafiltração e hiperfiltração. Trad. Pasilac. A.S.: Skimmilk processing by ultrafiltration and hiperfiltration. **Revista do ILCT**, Juiz de For a, p. 41-47, nov-dez, 1980.

BERTOLDI, M.C. **Atividade antioxidante *in vitro* da fração fenólica das oleoresinas e do óleo essencial de pimenta rosa (*Schinus terebinthifolius Raddi*)**. 2006.

96p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2006.

BERTOLINI, C. **Sistema para medição de cores utilizando espectrofotômetro**. 2010. 96p. Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado em Ciência da Computação) - Universidade Regional de Blumenau, Blumenau, 2010.

BEVERAGE WORLD INTERNATIONAL. **A new age of growth**. v. 16, p. 38-41, 1998.

BOBBIO, P. A.; BOBBIO, F. O.; **Química do processamento de alimentos**, 2ª edição, Varela: Campinas, 1992.

BORDIGNON, C. L.; FRANCESCATTO, v.; NIENOW, A. A. Influência do pH da solução extrativa no teor de antocianinas em frutos de morango. **Ciência e Tecnologia Alimentos**., Campinas, 29(1): 183-188, jan.-mar. 2009.

BRAND-WILIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology**, v.28, p.25-30. 1995.

BRASIL. Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003, **Ministério da Agricultura**, 2003.

BRASIL. Portaria nº451, de 19 de setembro de 1997. **Diário Oficial da União**. 1997.

BRASIL. Resolução RDC nº 18, de 27 de Abril de 2010, **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**, 2010.

BROINIZI, P. R. B. et al. Avaliação da atividade antioxidante dos compostos fenólicos naturalmente presentes em subprodutos do pseudofruto de caju (*Anacardium occidentale* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 1998.

BROINIZI, P. R. B. et al. Avaliação da atividade antioxidante dos compostos fenólicos naturalmente presentes em subprodutos do pseudofruto de caju (*Anacardium occidentale* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 4, p. 902-908, 2007.

BROUILLARD, R.; DUBOIS, J. E. Mechanism of the structural transformations of anthocyanins in acid media. **Journal of the American Chemical Society**, v. 99, p. 1359-1363, 1977.

BRUNINI, M. A.; OLIVEIRA, A. L.; SALANDINI, C. A. R.; BAZZO, F. R. Influência de embalagens e temperatura no armazenamento de jabuticabas (*Myrciaria jabuticaba* (vell) berg) cv 'Sabará'. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, p. 378-383, 2004.

BUCHWEITZ, M.; NAGEL, A.; CARLE, R.; KAMMERER, D. R. Characterisation of sugar beet pectin fractions providing enhanced stability of anthocyanin-based natural blue food colourants. **Food Chemistry**. 132, 1971, 2012.

BURIN, V.M.; ROSSA, P.N.; FERREIRA-LIMA, N.E.; HILLMANN, M.C.R.; BOIRDIGNON-LUIZ, M.T. Anthocyanins: optimisation of extraction from Cabernet Sauvignon grapes, microcapsulation and stability in soft drink. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 46, p. 186–193, 2011.

CALLONI, C. **Jabuticaba (Plinia trunciflora (O. Berg) Kausel): composição química, atividade antioxidante in vitro e redução do estresse oxidativo/nitrosativo via modulação da função mitocondrial em cultura de fibroblastos humanos (MRC-5).** Mestrado (dissertação), Brasil: Universidade de Caxias do Sul/Universidade Federal de Viçosa, 102p, 2014.

CAMPBELL, W. W.; Geik, R. A. Nutritional Considerations for the Older Athlete. **Nutrition**, v. 20, p. 603-608, 2004.

CARVALHO J. M. C.; MAIA G. A., SOUZA P. H. M.; MAIA G. A. J. **Água-de-coco: Propriedades nutricionais, funcionais e processamento.** Ciências agropecuárias, vol. 27 n. 3, pág 437-452, jul/set 2006.

CASTAÑEDA-OVANDO, A.; PACHECOHERNÁNDEZ, M. L.; PÁEZ-HERNÁNDEZ, M. E.; RODRÍGUEZ, J. A.; GALÁN-VIDAL, C. A. Chemical studies of anthocyanins: A review. **Food Chemistry**. 113, 859, 2009.

CASTRO, F.J.; SCHERER, R.; GODOY, H.T. Avaliação do Teor e da Estabilidade de Vitaminas do Complexo B e Vitamina C em Bebidas Isotônicas e Energéticas. **Química Nova**, v. 29, nº. 4, p.719-723, 2006.

CATARINO, A.; MARTINS A. P. L., DUARTE E.; SCHWINDEN PRUDÊNCIO, E.; PINHO, M. N. **Rennet coagulation of sheep milk processed by ultrafiltration at low concentrations factors**, Journal of Food Engineering, Vol. 114, p. 249–254, 2013.

CAVALCANTI, D.T.B.; ARAÚJO, C.R.; PIMENTEL, M.R.F.; PEREIRA, E.V.S.; OLIVEIRA, S.P.A.; FERREIRA, L.C.; DE LIMA, V.L.A.G. Teor de antocianinas em polpas congeladas de uva, morango e açaí comercializadas em torno da UFRPE. **X jornada de ensino, pesquisa e extensão (jepex) – UFRPE: 2010, recife.**

CAVALCANTI, R. N.; SANTOS, D. T.; MEIRELES, A. A. Non-thermal stabilization mechanisms of anthocyanins in model and food systems—An overview. **Food Res. Int.** 44, 459. 2011.

CEVALLOS-CASALS, B.A.; CISNEROS-ZEVALLOS, LUIS. Stability of anthocyaninbased aqueous extracts of Andean purple corn and red-fleshed sweet potato compared to synthetic and natural colorants. **Food Chemistry**, v. 86, p. 69–77, 2004.

CHAOVANALIKIT, A.; WROLSTAD, R. E. Total anthocyanins and total phenolics of fresh and processed cherries and their antioxidant properties. **Journal of Food Science**, v. 69, p. FCT67-FCT72, 2004.

CHEN, P. N.; CHU, S. C.; CHIOU, H. L.; KUO, W. H.; CHIANG, C. L.; HSIEH, Y. S. Mulberry anthocyanins, cyanidin 3-rutinoside and cyanidin 3-glucoside, exhibited an inhibitory effect on the migration and invasion of a human lung cancer cell line. **Cancer Letters**, v. 235, p. 248, 2006.

CHOLLAGI, A. Comparison of two ultrafiltration membrane systems for whole milk feta cheese production, 2009, 142p, Thesis of Master degree in **Food Technogy**, Vol. 114, p. 249–254, 2009.

CIPRIANO, P.A. **Antocianinas de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) e casca de jabuticaba na formulação de bebidas isotônicas**. Mestrado (dissertação), Brasil: Universidade Federal de Viçosa, 131p, 2011.

CONDACK, J. **Ultrafiltração do soro de queijo: Parâmetros operacionais e utilização do concentrado protéico na fabricação de requeijão cremoso**. Mestrado(dissertação), Brasil: Universidade Federal de Viçosa, 120p, 1993.

CONSTANT, P. B. L. **Extração, Caracterização e Aplicação de Antocianinas de Açaí (*Euterpe oleracea*, M.)**. Viçosa, MG: UFV, 2003, 186p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, 2003.

CONSTANT, P.B.L.; STRINGHETA, P.C.; SANDI, D. Corantes Alimentícios. **Boletim do CEPPA**, v. 20, p. 203-220, 2002.

CUNHA TM, ILHA EC, AMBONI RDMC, BARRETO PLM, CASTRO FP, PRUDENCIO ES. A influência do uso do soro de queijo e bactérias probióticas nas propriedades de bebidas lácteas fermentadas. **Brazilian Journal of Food Technology** 2009; 12(1): 23-33.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K.L.; FENNEMA, O.R. **Química de alimentos de Fennema**. Porto Alegre: Artmed, 2010. p.378-380, 492.

DE BARROS, ALLEN LOPES. **Emprego de sistema em fluxo a altas temperatura e pressão no preparo de amostras de leite e sangue de bovinos**. 2008. Tese de Doutorado. Instituto de Química de São Carlos.

DE MARCHI , R.; MONTEIRO, M. Avaliação da Vida-de-Prateleira de um Isotônico Natural de Maracujá (*Passiflora edulis Sims. f. flavicarpa Deg.*). **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 6, p. 291-300, 2003.

DONADIO, L. C. **Jaboticaba (Myrciaria jaboticaba (Vell.) Berg)**. Jaboticabal: Funep, 2000. 55p.

DOWES, F. P.; ITO, K. (Eds.) **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4<sup>o</sup>ed. American Public Health Association. Washington, DC., 2001. 676 p.

DUZZIONI, A.G. **Avaliação da atividade antioxidante e quantificação dos principais constituintes bioativos de algumas variedades de frutas cítricas**. 2009. 115p. Tese (Doutorado em Alimentos e Nutrição) – Universidade Estadual Paulista, Araraquara, SP, 2009.

ESCRIBANO-BAILÓN, M. T.; SANTOS-BUELGA, C.; RIVAS-GONZALO, J. C. Anthocyanins in cereals. **Journal Chromatogr. A** 2004, 1054, 129.

ESTUPINÁN, D.C.; SCHWARTZ, S.J.; GARZÓN, S.A. Antioxidant Activity, Total phenolics content, anthocyanin, and color stability of isotonic model beverages colored with andes berry (*rubus glaucus benth*) anthocyanin powder. **Journal of Food Science**, v. 76, p. S26-S34, 2011.

FAEDO, R., Obtenção de leite com baixo teor de lactose por processos de separação por membranas associados à hidrólise enzimática. **Revista CIATEC – UPF**, vol.3 (1), p.p.44-54. Universidade de Passo Fundo, 2013.

FALLICO, B.; ARENA, E.; CHIAPPARA, E.; BALLISTRERI, G. Colour and label evaluation of commercial pasteurized red juices and related drinks. **Food Additives and Contaminants: Part B**, v. 3, p. 201-211, 2010.

FONTES, E. A. F., ALVES, Y. P. C., FONTES, P. R., & MINIM, V. P. R. (2015). Bebida eletrolítica a base de permeado da ultrafiltração de leite: avaliação física, química e microbiológica durante o armazenamento. **Ciência Rural**, 45(2), 342-348.

FRANCIS, F. J. Food colorants: anthocyanins. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 28, p. 273-314, 1989.

FRANCIS, F. J.; CLYDESDALE, F. M. **Food colorimetry: theory and applications**. Connecticut: The Avi Publishing Company, Inc., 1975. 477p.

FULEKI, T.; FRANCIS, F.J. Quantitative methods for anthocyanins: 2. Determination of total anthocyanins and degradation index for cranberry juice. **Journal of Food Science**, v.33, p.78-83, 1968.

GAO, L.; MAZZA, O. Extraction of anthocyanin pigments from purple sunflower hulls. **Journal of Food Science**, v. 61, p. 600-603, 1996.

GARCIA-VIGUERA, C.; ZAFRILLA, P.; TOMÁS-BARBERÁN, A. The use of acetone as an extraction solvent for anthocyanins from strawberry fruit. **Phytochemistry Analysis**, v. 9, p. 274, 1998.

GEA FILTRATION, **Filtração por Membrana**. Empresa Gea ktiengesellschaft. Gea Navigator. Diponível em: [http://www.geafiltration.com/portuguese/mercados\\_aplicacoes/alimentos\\_e\\_bebidas.htm](http://www.geafiltration.com/portuguese/mercados_aplicacoes/alimentos_e_bebidas.htm). Acesso em: 15 Ago. 2012.

GEOCZE, A.C. **Influência da preparação do licor de jabuticaba (Myrciaria Jabuticaba Vell Berg) no teor de compostos fenólicos**. 2007. 80p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, 2007.

GIESE, J. H. Developments in beverage additives. **Food Technology**, v. 49, p. 64-72, 1995.

GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E. Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food systems. **Biochemical engineering journal**, v. 14, p. 217-225, 2003.

GOMES, P. **Fruticultura brasileira**. 9. ed. São Paulo: Nobel, 1983. 446p.

GONÇALVES, E., MARTINS, R., CHIAPETTA, S., PAULA, F., & SANTOS, R. Avaliação da vida de prateleira de bebida isotônica elaborada com suco concentrado de frutas e hortaliças congelado por 30 dias. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 22, n. 4, p. 623-629, 2012.

GUEDES, M.N.S. **Diversidade de acessos de jabuticabeira ‘Sabará’ em Diamantina/MG por meio da caracterização biométrica e físico-química dos frutos e fisiológica das sementes**. 2009. 70p. Dissertação (Mestrado em Produção vegetal) - Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, MG, 2009.

HAMERSKI, L.;\* REZENDE, M. J. C.; SILVA, B. V. Rev. **Virtual Química**, 2013, 5 (3), 394-420.

HARBONE, J. B.; MABRY, T. J.; MABRY, H. **The flavonoids**. New York: Academic Press, 1975. 744p.

HARBORNE, J.B. **The Flavonoids, Advances in Research since 1986**. London: Chapman & Hall, 1994. 676p.

HASSIMOTTO, N. M. A.; GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Antioxidant activity of dietary fruits, vegetables, and commercial frozen fruit pulps. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 53, n. 8, p. 2928-2935, Mar. 2005.

HUGHES, N. M.; MORLEY, C. B.; SMITH, W. K. Coordination of anthocyanin decline and photosynthetic maturation in juvenile leaves of three deciduous tree species. **The New phytologist**, v. 175, p. 675-685, 2007.

IACOBUCCI, G. A.; SWEENEY, J. G. The chemistry of anthocyanins, anthocyanidins, and related flavilium salts. **Tetrahedron**, v. 39, p. 3005-3038, 1983.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ (São Paulo). Leites e derivados. In: **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 1. ed. digital. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. p. 819-877.

JACKMAN, R. L.; SMITH, J. L. **Anthocyanins and betalains**. In: HENDRY, G. A. F.; HOUGHTON, J. D. (Eds.) *NaT. Food Color*. 2nd ed. Londres: Chapman & Hall, 1996.p. 245- 309.

JU, Z. Y.; HOWARD, L. R. Subcritical water and sulfured water extraction of anthocyanins and other phenolics from dried red grape skin. **Journal of Food Science**, v. 70, p. S270-S273, 2005.

KIM, S.; PARK, J.; HWANG, I. K. Composition of main carotenoids in Korean red pepper (*Capsicum annuum*, L.) and changes of pigment stability during the drying and storage process. **Journal of Food Science**, v. 69, p. FCT39-FCT44, 2004.

KING, A.; YOUNG, G. Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. **Journal of the American Dietetic Association**, Chicago, v. 99, n. 2, p. 213-218, 1999.

KUFNER, D. E. **Atividade antioxidante do extrato aquoso de manjerona (origanum majorana L.), em linguiça frescal de frango**. Mestrado (dissertação), Brasil: Departamento de ciências agrárias. Programa de pós-graduação em engenharia de alimentos, Erechim, RS, 2010.

KUSKOSKI, M. E.; ASUERO, A. G.; MORALES, M. T.; FETT, R. Frutos tropicais silvestres e polpas de frutas congeladas: atividade antioxidante, fenólicos e antocianinas. **Ciência Rural**, v. 36, p. 1283-1287, 2006.

LAINE, P.; KYLLI, P.; HEINONEN, M.; KIRSI, J. Storage stability of microencapsulated Cloudberry (*Rubus chamaemorus*) phenolics. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 11251-61, 2008.

LAGE, F. F. **Casca de jaboticaba: inibição de enzimas digestivas, antioxidante, efeitos biológicos sobre o fígado e perfil lipídico**. Tese (Doutorado em Agroquímica) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2014.

LEÃO, A.C. **Gerenciamento de cores para imagens digitais**. 2005. 135p. Dissertação (Mestrado em Artes Visuais) - Escola de Belas Artes, Belo Horizonte, MG, 2005.

LEE, H.S.; HONG, V. Chromatographic analysis of anthocyanins. **Journal of Chromatography A**, v. 624, p. 221-234, 1992.

LEITE, F. N. **Calibração de dispositivos de cores utilizando uma câmera digital**. 2006. 58f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Elétrica) - Universidade de Brasília, Brasília, 2006.

LEITE-LEGATTI, A.V.; BATISTA, A.G.; DRAGANO, N.R.V.; MARQUES, A.C.; MALTA, L.G.; RICCIO, M.F.; EBERLIN, M.N.; THOMAZELA, A.R.M.; SILVA, L.B.C.; RUIZ, A.L.T.G.; CARVALHO, J.E.; PASTORE, G.M.; JÚNIOR, M.R.M. Jaboticaba peel: Antioxidant compounds, antiproliferative and antimutagenic activities. **Food Research International**, v.49, p.596–603, 2012.

LIMA, A. J. B.; CORRÊA, A. D.; DANTAS-BARROS, A. M.; NELSON, D. L.; AMORIM, A.C.L. (2011). Sugars, organic acids, minerals and lipids in jaboticaba. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 33(2), 540-550.

LIMA, A. J. B.; CORRÊA, A. D.; SACZK, A. A., MARTINS, M. P.; CASTILHO, R. O. (2011). Anthocyanins, pigment stability and antioxidant activity in jaboticaba [*Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg]. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 33(3), 877-887.

LIMA, A.J.B; DUARTE, A.C; ALVES, A.P.C.; CARVALHO ALVES. Caracterização química do fruto jaboticaba (*Myrciaria cauliflora* Berg) e de suas frações. **Archivos Latino americanos de Nutrición**, v.58, n.4, p.416-421, 2008.

LIMA, V.L.A.G.; MÉLO, E.A.; GUERRA, N.B. Correlação entre o Teor de Antocianinas e Caracterização Cromática de Polpas de Diferentes Genótipos de Aceroleira. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 10, p. 51-55, 2007.

LOPES, T. J.; XAVIER, M. F.; QUADRI, M. G. N.; QUADRI, M. B. R. Antocianinas: uma breve revisão das características estruturais e da estabilidade. **Bras. Agrocência** . 13, 291, 2007.

MADHAVI, D. L.; SMITH, M. A. L.; BERBER-JIMÉNEZ, M. D. Expression of anthocyanins in callus cultures of cranberry (*Vaccinium macrocarpon Ait*). **Journal of Food Science**, v. 60, p. 351-355, 1995.

MAIOLI, D. **Caracterização físico-química e sensorial de bebida energética durante o armazenamento**. TCC (Trabalho de conclusão de curso) - Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, 2014.

MALACRIDA, C.R.; MOTTA, S. ANTOCIANINAS em suco de uva: composição e estabilidade. **Boletim CEPPA**, v. 24, p. 59-82, 2006.

MALLMANN, L. P. **Extração de antocianinas a partir da casca da berinjela (*Solanum melogena*)**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2011.

MANACH, C. et al. Polyphenols: food sources and bioavailability. **The American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 79, n. 5, p. 727-747, 2004.

MARCHIONI, D.M.L.; SLATER, B.; FISBERG, R. Aplicação das Dietary Reference Intakes na avaliação da ingestão de nutrientes para indivíduos. **Revista de Nutrição**, v. 17, p. 207-216, 2004.

MARÇO, P. H.; POPPI, R. J.; SCARMINIO, I. S. **Química Nova** 2008, 31, 1218.

MEDEIROS, R. A. B.; SALGADO S. M. Avaliação sensorial e microbiológica da vida de prateleira de bebida láctea simbiótica. **CTG-UFPE**, 2011.

MELO, E. A. et al. Capacidade antioxidante de frutas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 44, n. 2, p. 193-201, 2008.

MELO, E. A.; MACIEL, M. I. S.; LIMA, V. L. A. G.; SANTANA, A. P. M. Capacidade antioxidante de hortaliças submetidas a tratamento térmico. **Journal of the Brazilian Society of Food and Nutrition**, v.34, n.1, p.85-95, 2009.

MENEZES, J. B. Pós-colheita do pedúnculo do caju. **Informe Agropecuário**, v. 17, n. 180, p. 13-17, 1994.

MILLER, N.J.; RICE-EVANS, C.A. Factors influencing the antioxidant activity determined by the ABTS radical cation assay. **Free Radical Research**, v. 26, p. 195-199, 1997.

MIURA, K.; KIKUZAKI, H.; NAKATANI, N. Antioxidant activity of chemical components from sage (*Salvia officinalis L.*) and thyme (*Thymus vulgaris L.*) measured

by the oil stability index method. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 1845-1851, 2002.

MONTES, C.; VICARIO, I.M.; RAYMUNDO, M.; FETT, R.; HEREDIA, F.J. Application of tristimulus colorimetry to optimize the extraction of anthocyanins from jaboticaba (*Myrcia jaboticaba* Berg). **Food Research International**, v.38, p.983-988, 2005.

MOREIRA, A. V. B.; MANCINI-FILHO, J. Influência dos compostos fenólicos de especiarias sobre a lipoperoxidação e o perfil lipídico de tecidos de ratos. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 17, n. 4, p. 411-424, 2004.

MOSCATTO, J. A.; PRUDÊNCIO-FERREIRA, S. H.; HAULY, M. C. O. Farinha de yacon e inulina como ingredientes na formulação de bolo de chocolate. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n. 4, p. 634-640, 2004.

NICOUÉ, E. E.; SAVARD, S.; BELKACEMI, K. Anthocyanins in wild blueberries of Quebec: extraction and identification. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 5626-5635, 2007.

OKI, T.; KOBAYASHI, M.; NAKAMURA, T.; OKUYAMA, A.; MASUDA, M.; SHIRATSUCHI, H.; SUDA, I. Changes in radical-scavenging activity and components of mulberry fruit during maturation. **Journal of Food Science**, v. 71, p. C18-C22, 2006.

OLIVEIRA, A. L.; BRUNINI, M. A.; SALANDINI, C. A. R. Caracterização tecnológica de jaboticabas 'Sabará' provenientes de diferentes regiões de cultivo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, p. 397-400., 2003.

OLIVEIRA, M. C. L.; MOURA, J. P.; BENEDT, H. D. **Caracterização química e avaliação sensorial de bebida hidroeletrólítica fermentada obtida a partir de permeado de leite tipo C**. Florianópolis: UFSC, 2006.

OLIVEIRA, L. A. "Yacon (*Smallanthus sonchifolius*): compostos fenólicos totais e efeitos sobre a glicemia e estresse oxidativo em ratos diabéticos." (2010): 76-f.

PATRAS, Á.; BOUTOÛ, N. P.; O'DOYELL, C.; TIWARI, B. K. Effect of thermal processing on anthocyanin stability in foods; mechanisms and kinetics of degradation. **Trends Food Sci. Tech.** 21, 3. 2010.

PAULA, J.C.J. **Elaboração e estabilidade de bebida carbonatada aromatizada á base de soro de leite**. Mestrado (dissertação), Brasil: Universidade Federal de Viçosa, 57p, 2005.

PAZMIÑO-DURÁN, E.A.; GIUSTI, M.M.; WROLSTAD, R.E.; GLÒRIA, M.B.A. Anthocyanins from *Oxalis triangularis* as potential food colorants. **Food Chemistry**, v. 75, p. 211-216, 2001.

PEDRIELLI, P.; SKIBSTED, L. H. Anti-oxidant synergy and regeneration effect of quercetin, (-)-epicatechin, and (+)-catechin on alpha-tocopherol in homogeneous solutions of peroxidating methyl linoleate. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v. 50, n. 24, p. 7138-7144, Nov. 2002.

PEREIRA, D.B.C.; SILVA, P.H.F.; COSTA JÚNIOR, L.C.G.; OLIVEIRA, L.L. Físico-Química do Leite e Derivados: Métodos Analíticos. Juiz de Fora. 2 ed. Templo Gráfica e Editora. 2001.234p.

PÉREZ-GALVÉS, A., MÍNGUEZ-MOSQUERA, M.A. Degradation, under non-oxygen mediated autooxidation, of carotenoid profile present in paprika oleoresins with lipid substrates of different fatty acid composition. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.52, p.632-637, 2004.

PETRUS, R.R.; FARIA, J.A.F. Processamento e avaliação de estabilidade de bebida isotônica em garrafa plástica. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, p. 18-24, 2005.

PODSEDEK, A. Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: a review. **Food Science and Technology**, Trivandrum, v. 40, n. 1, p. 1-11, Jan. 2007.

PONTES, L. V. **Avaliação sensorial e Instrumental da cor de misturas em pó para refresco, bebida isotônica e gelatina utilizando corantes naturais**. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Viçosa. 2004.

PRODANOV, M. P.; DOMÍNGUEZ, J. A.; BLÁZQUEZ, I.; SALINAS, M. R.; ALONSO, G. L. Some aspects of the quantitative/qualitative assessment of commercial anthocyanin-rich extracts. **Food Chemistry**. 2005, 90, 585.

QUINA, F. H.; FREITAS, A. A.; MAÇANITA, A. L.; SILVA, P. F.; LIMA, J. C. The (photo)chemistry of anthocyanins. **The Spectrum**, v. 19, p. 18-23, 2006.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICEEVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 26, p. 1231- 1237, 1999.

REVILLA, E.; RYAN, J. M.; MARTIN-ORTEGA, G. Comparison of several procedures used for the extraction of anthocyanins from red grapes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, p. 4592-4597, 1998.

RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N. J. & PAGANGA, G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. **Free Radic.Biol.Med**, v. 20, p. 933-945, 1996.

ROBARDS, K. Strategies for the determination of bioactive phenols in plants, fruit and vegetables. **Journal of Chromatography A**, v. 1000, p. 657–691, 2003.

ROCHA, C.G.R. **Adição dos corantes naturais antocianinas e luteína em bebidas formuladas com proteínas de soro de leite**. 2013. 111p. Dissertação (Mestrado em Ciencia e tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2013.

ROSSO, V.V. **Composição de carotenóides e antocianinas em acerola. Estabilidade e atividade antioxidante de extratos antociânicos em sistemas-modelo de extratos antociânicos de acerola e açaí**. Campinas, 2006, 134p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).

RUFINO, M.S.M.; ALVES, R.E.; BRITO, E.S.; JIMÉNEZ, J.P.; SAURA-CALIXTO, F.; MANCINI-FILHO, J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 nontraditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v.121, p.996-1002, 2010.

SAAT, M.; SINGH, R.; SIRISINGHE, R. G.; NAWAWI, M. Rehydration after exercise with fresh young coconut water, carbohydrate-electrolyte beverage and plain water. **Journal of Physiological anthropology**, Japan, v.21, n.2, p.93-104, 2002.

SAMPAIO, P.G. **Otimização da extração, esterilização e identificação de antocianinas obtidas a partir de frutas**. 2008. 133p. Dissertação (Mestrado em Química) - Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 2008.

SÁNCHEZ-MORENO, C.; LARRAURI, J.A.; SAURA-CALIXTO, F. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.76, p.270-276. 1998.

SANTOS, D.T.; VEGGI, P.C.; MEIRELES, M.A.A. Extraction of antioxidant compounds from Jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) skins: Yield, composition and economical evaluation. **Journal of Food Engineering**, v.101, p.23–31, 2010.

SCHANDA, J. **Colorimetry: understand the CIE system**. Hoboken: Wiley, 2007. 467p. CIE - Commission International de l'Eclairage, 1976. Disponível em <<http://www.colourware.co.uk/cpfaq/q3-21.htm>>. Acesso em: 12 Set. 2010.

SCHWARTZ, S.J.; VON HELBE, J.; GIUSTI, M.M. Corantes. In: FENNEMA, O.R. **Química de Alimentos**. Porto Alegre: Artmed. 2010. Cap 8, p.445-498.

SELLAPPAN, S.; AKOH, C. C.; KREWER, G.. Phenolic compounds and antioxidant capacity of Georgia-Grown blueberries and blackberries. **Journal Agriculture Food Chemistry**. v. 50, p. 2432-2438, 2002.

SICHERT-HELLERT, W.; KERSTING, M. Significance of fortified beverages in the long-term diet of German children and adolescents: 15-year results of the Donald study. **International journal for vitamin and nutrition research**, v. 71, p. 356-363, 2001.

SILVA, F.V.G.; MAIA, G.A.; CARVALHO, J.M.; MEIRA, T.R. Composição mineral de bebida mista elaborada com água-de-coco e suco de maracujá. **Visão Acadêmica**, v. 7, n. 1, 2006.

SILVA, G.J.F.; CONSTANT, P.B.L.; FIGUEIREDO, R.W.; MOURA, S.M. Formulação e estabilidade de corantes de antocianinas extraídas das cascas de jabuticaba (*myrciaria ssp.*). **Alimentos e nutrição**, v. 21, p. 429-436, 2010.

SINGLETON, V.L.; ROSSI, J.A, Jr. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic Phosphotungstic Acid Reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v.16, 144-158, 1965.

SOARES, M. et al. Avaliação da atividade antioxidante e identificação dos ácidos fenólicos presentes no bagaço de maçã cv. Gala. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, n. 3, p. 727-732, 2008.

STINTZING, F. C.; STINTZING, A. S.; CARLE, R.; FREI, B.; WROLSTAD, R. E. Color and antioxidant properties of cyanidin-based anthocyanin pigments. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 6172, 2002.

TEIXEIRA, E.; MEINERT, E.; BARBETA, P. A. **Análise sensorial dos alimentos**. Florianópolis: Ed. UFSC, 1987.

TEIXEIRA, E.; MEINERT, E.; BARBETA, P. A. **Análise sensorial dos alimentos**. Florianópolis: UFSC, 1987.182 p.

TEIXEIRA, N.C. **Desenvolvimento, caracterização físico-química e avaliação sensorial de suco de jabuticaba (*myrciaria Jabuticaba (vell) berg*)**. 2011. 137p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais Belo Horizonte, Belo Horizonte, MG, 2011.

TEMPLE, N.J. Antioxidants and diseases: More questions than answers. **Nutrition and Research**, v. 20, p. 449-459, 2000.

TERCI, D. B. L.; ROSSI, A. V. **Química Nova** 2002, 25, 684.

TERCI, D.B.L. **Aplicações analíticas e didáticas de antocianinas extraídas de frutas**. 2004. 231p. Tese (Doutorado em Química Analítica) - Instituto de Química da UNICAMP, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 2004.

VALKO, M. et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, Oxford, v. 32, n. 3, p. 3-41, 2006.

VALLS, J.; MILLÁN, S.; MARTÍ, M. P.; BORRÀS, E.; AROLA, L. J. Advanced separation methods of food anthocyanins, isoflavones and flavanols. **Chromatogr., A** 2009, 1216, 7143.

VEDANA, M.I.S.; ZIEMER, C.; MIGUEL, O.G.; PORTELLA, A.C.; CANDIDO, L.M.B. Efeito do processamento na atividade antioxidante de uva. **Alimentos e nutrição**, v. 19, p. 159-165, 2008.

WROLSTAD, R. E. J. Some aspects of the quantitative/qualitative assessment of commercial anthocyanin-rich extracts. **Food Sci.** 2004, 69, 419.

YEE, K. W. K.; WILEY, D. E.; BAO J. **Whey Protein Concentrate Production By Continuous Ultrafiltration: Operability Under Constant Operating Conditions**. *Journal of Membrane Science*, Westlake, Vol. 290, p.125-137, 2007.

ZICKER, M. C. **Obtenção e utilização do extrato aquoso de jabuticaba (myrciaria jabuticaba (vell) berg) em leite fermentado: caracterização físico-química e sensorial**. Mestrado (dissertação), Brasil: Universidade Federal de Minas Gerais, 2011.

# Apêndice

**Tabela 1A** – Resumo da análise de variância das variáveis pH, osmolalidade (Osmol), sólidos solúveis totais (SST) e acidez total titulável (ATT) em bebidas formuladas com permeado da ultrafiltração de leite adicionado de extrato antociânico da casca da jabuticaba, durante estocagem por 60 dias, em diferentes condições e na presença e ausência de luz e temperatura de armazenamento

FV	g.l	pH		Osmol		SST		ATT	
		QM	P > F	QM	P > F	QM	P > F	QM	P > F
T	3	0,0004 <sup>n.s</sup>	0,9150	1,2325 <sup>n.s</sup>	0,9312	0,0005 <sup>n.s</sup>	1,0000	0,0006 <sup>n.s</sup>	0,9858
T (rep)	8	0,0026	<,0001	8,6077	<,0001	0,9698	<,0001	0,0136	<,0001
T	8	0,0012*	0,0123	17,4854*	<,0001	0,0492*	<,0001	0,0283*	<,0001
T*t	24	0,0001 <sup>n.s</sup>	0,9951	0,1286 <sup>n.s</sup>	0,9764	0,0014 <sup>n.s</sup>	0,9999	0,0002 <sup>n.s</sup>	1,0000
T*t*(rep)	64	0,0004	<,0001	0,2689	<,0001	0,0061	<,0001	0,0013	<,0001

**Tabela 2A** – Resumo da análise de variância das variáveis dos parâmetros de cor luminosidade (L\*), valor a\*, valor b\*, tonalidade (h\*) e saturação (C\*) em bebidas formuladas com permeado da ultrafiltração de leite adicionado de extrato antociânico da casca da jabuticaba durante estocagem por 60 dias, em diferentes condições de estocagem na presença e ausência de luz e temperaturas de armazenamento

FV	g.l	L*		a*		b*		h*		C*	
		QM	P > F	QM	P > F	QM	P > F	QM	P > F	QM	P > F
T	3	284,0019*	0,0001	996,6736*	<,0001	60,5560*	0,0070	2160,5593*	<,0001	488,4290*	<,0001
T (rep)	8	10,2844*	<,0001	13,1784*	<,0001	7,0612*	<,0001	24,3388*	<,0001	13,6220*	<,0001
t	8	12,2565*	<,0001	197,0653*	<,0001	2,8552*	0,0052	280,7358*	<,0001	116,1571*	<,0001
T*t	24	5,9935*	<,0001	28,5812*	<,0001	5,2857*	<,0001	122,9871*	<,0001	9,8482*	<,0001
T*t*(rep)	64	1,2248*	<,0001	1,4287*	<,0001	0,9237*	<,0001	4,7538*	<,0001	1,0977*	<,0001

**Tabela 3A** – Resumo da análise de variância das variáveis antocianinas, polifenóis e atividade antioxidante total pelos radicais DPPH e ABTS em bebidas formuladas com permeado da ultrafiltração de leite adicionado de extrato antociânico da casca da jabuticaba, durante estocagem por 60 dias, em diferentes condições de estocagem na presença e ausência de luz e temperaturas de armazenamento

FV	g.l	Antocianinas		Polifenóis		DPPH		ABTS	
		QM	P > F	QM	P > F	QM	P > F	QM	P > F
T	3	405,2702*	<,0001	609,6733 <sup>n.s</sup>	0,9898	0,02280 <sup>n.s</sup>	0,8561	0,2278*	0,0437
T (rep)	8	10,0988	<,0001	16486,98	<,0001	0,0896	<,0001	0,0528 <sup>n.s</sup>	<,0001
T	8	78,1116*	<,0001	31829,76*	<,0001	1,0383*	<,0001	0,4923*	<,0001
T*t	24	8,4088*	<,0001	158,9718 <sup>n.s</sup>	1,0000	0,0178*	0,0084	0,0371*	0,0253
T*t*(rep)	64	0,6183 <sup>n.s</sup>	<,0001	1168,065	<,0001	0,0083	<,0001	0,0199	<,0001