

LETÍCIA ROCHA FERREIRA

**BEBIDA ISOTÔNICA FORMULADA A BASE DE PERMEADO
OBTIDO DA ULTRAFILTRAÇÃO DO SORO DE LEITE
ADICIONADO DE CAROTENOIDES EM PÓ DE PEQUI (*Caryocar
brasiliense* Camb.)**

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
2017

Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa

T

F383b
2017
Ferreira, Leticia Rocha, 1989-
Bebida isotônica formulada a base de permeado obtido da
ultrafiltração do soro de leite adicionado de carotenoides em pó
de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) / Letícia Rocha Ferreira.
– Viçosa, MG, 2017.
xi, 86f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui apêndice.

Orientador: Edimar Aparecida Filomeno Fontes.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f.68-74.

1. Alimentos - Avaliação sensorial. 2. Bebidas não
alcoólicas. 3. Antioxidante. 4. Carotenóides. 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. 664.07

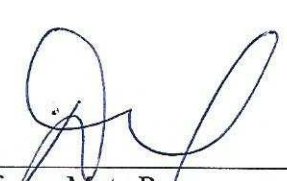
LETÍCIA ROCHA FERREIRA

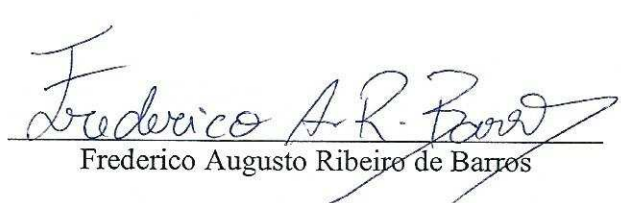
**BEBIDA ISOTÔNICA FORMULADA A BASE DE PERMEADO
OBTIDO DA ULTRAFILTRAÇÃO DO SORO DE LEITE
ADICIONADO DE CAROTENOIDES EM PÓ DE PEQUI (*Caryocar
brasiliense* Camb.)**


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: 02 de junho de 2017.


Paulo César Stringheta
(Coorientador)


Afonso Mota Ramos
(Coorientador)


Frederico Augusto Ribeiro de Barros


Edimar Aparecida Filomeno Fontes
(Orientadora)

“Turn your face toward the sun
and the shadows will fall
behind you.”

Maori proverb.

AGRADECIMENTOS

A Deus pelo dom da vida, sua constante presença e pela força para superar os desafios.

Aos meus pais Scheilla e Sebastião, à minha irmã Mariana, minha madrinha Shirley e avó Wecy pela compreensão, apoio, força, orações e amor incondicional.

Às amigadas feitas nessa jornada, irmãs de laboratório (Lab 104) Alessandra, Dandara, Patrícia e Marcela, pelas constantes risadas, companhia nos almoços, cafés da tarde, além dos auxílios nas análises e amigos de departamento Léo, Michele e Thaís.

Um agradecimento especial à Flávia, grande companheira de análise de capacidade antioxidante e ao seu marido, Wilton por toda ajuda e à Letícia Mafle, rainha da eficiência, anjo da iniciação científica, companheira das madrugadas de secagem, dias e noites, sob chuva ou sol.

À Nena, grande amiga e conselheira, dona dos abraços maternos em Viçosa.

À Universidade Federal de Viçosa e ao programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudos.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pelo financiamento do projeto.

À Professora Edimar, pela orientação e pelos ensinamentos.

Aos professores Fred Barros, Afonso e Stringheta pelos importantes ensinamentos e sugestões valiosas para enriquecimento desse trabalho.

Ao professor Stringheta pelos ensinamentos compartilhados, sugestões e pela utilização do laboratório e liofilizador.

Aos professores Nélio e Edgard e aos amigos do laboratório 102, Carmelita e João e aos pelo uso das BODs para análise microbiológica.

Aos demais amigos de outro departamento feitos e fortalecidos nessa jornada, Fred Augusto, irmão de coração, grande companheiro e amigo, sempre paciente, atencioso e prestativo e aos “fisiofriends” Gabi, Rick, Vanessa Agenda e Duanny.

Aos meus amigos da Micro agrícola Gabriel, Mayara, Léo, Felipe, Deisy, Raquel e Elsa.

Ao meu querido Alex da genética.

A todos meus amigos, mesmo que a distância fizeram parte desse trabalho em especial ao Lomanto, pela companhia diária, dicas e pitacos impagáveis.

Aos eternos amigos da “Turma do Aê” pela torcida e boas energias

Ao Rafael pela ajuda no processamento do pequi e produção do soro do leite.

Ao Renan que me auxiliou e acompanhou nas secagens iniciais.

Ao Ariel e Felipe pela ajuda na ultrafiltração do soro de leite para obtenção do permeado.

Aos funcionários Talita, José Geraldo, Helvécio, Vandique e Silvério sempre prestativos.

Aos atletas da LUVE pela participação na análise sensorial e a Francine e Tamires pela ajuda.

Aos orientados do Stringheta pela ajuda no uso do liofilizador.

Aos professores do curso de pós Graduação da UFV, pelos conhecimentos transmitidos.

À empresa GEMACOM pela doação da maltodextrina.

A todos os professores e funcionários, colegas de DTA e de outros departamentos, que direta ou indiretamente contribuíram para a realização desse trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	vi
SUMÁRIO	iv
LISTA DE TABELAS	vi
LISTA DE FIGURAS	vii
RESUMO	viii
ABSTRACT	X
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	3
2.1. OBJETIVO GERAL	3
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	3
3. REVISÃO DE LITERATURA	4
3.1. LEITE E SORO DE LEITE	4
3.2. PERMEADO DA ULTRAFILTRAÇÃO DO SORO DE LEITE	5
3.3. BEBIDAS ISOTÔNICAS	9
3.4. PEQUI	10
3.4.1 CARACTERÍSTICAS E OCORRÊNCIAS	10
3.4.2. COMPOSIÇÃO QUÍMICA E COMPOSTOS BIOATIVOS DO PEQUI	12
3.5. CAROTENOIDES	15
3.6. ENCAPSULAÇÃO DE PIGMENTOS	18
3.6.1. SECAGEM EM CAMADA DE ESPUMA	20
4. MATERIAL E MÉTODOS	22
4.1. OBTENÇÃO DA MATÉRIA PRIMA	22
4.1.1. PERMEADO DA ULTRAFILTRAÇÃO DO SORO DE LEITE	22
4.1.2. PEQUI IN NATURA	22
4.1.3. EMULSIFICANTE E ENCAPSULANTE	23
4.2. OBTENÇÃO DE CAROTENOIDES EM PÓ DE PEQUI	23
4.2.1 POLPA DE PEQUI DESIDRATADA	25
4.2.2. EXTRAÇÃO DOS CAROTENOIDES DE PEQUI	25
4.2.3. OBTENÇÃO DOS CAROTENOIDES EM PÓ DE PEQUI PELA TÉCNICA DE SECAGEM EM CAMADA DE ESPUMA	25
4.3.ELABORAÇÃO DA BEBIDA	26
4.4. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	27
4.5. ANÁLISES FÍSICAS E QUÍMICAS	28
4.5.1. COMPOSIÇÃO CENTESIMAL	28
4.5.2. PH, ACIDEZ TOTAL TITULÁVEL E SÓLIDOS SOLÚVEIS TOTAIS	29
4.5.3. ATIVIDADE DE ÁGUA	29
4.5.4. DETERMINAÇÃO DE MINERAIS	29

4.5.5. CAROTENOIDES TOTAIS	30
4.5.6. CAPACIDADE ANTIOXIDANTE	30
4.5.7. COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS.....	32
4.5.8. MEDIDA DA OSMOLALIDADE	33
4.5.9. ANÁLISE OBJETIVA DA COR.....	33
4.5.10. ÍNDICE DE SEPARAÇÃO	34
4.6. ESTUDO DE ESTABILIDADE DA BEBIDA ISOTÔNICA	34
4.6.1. CÁLCULO DA VELOCIDADE DE DEGRADAÇÃO (KD)	34
4.6.2. DETERMINAÇÃO DO TEMPO DE MEIA VIDA (T_{1/2}).....	34
4.7. AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DA BEBIDA DURANTE ARMAZENAMENTO.....	35
4.8. ANÁLISE SENSORIAL DA BEBIDA ISOTÔNICA	35
4.9. ANÁLISE ESTATÍSTICA	36
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
5.1. PROCESSAMENTO DOS PEQUIS IN NATURA E RENDIMENTOS DAS EXTRAÇÕES.....	37
5.1.1. POLPA DE PEQUI	37
5.2.1. PERMEADO	40
5.2.2. PEQUI IN NATURA.....	41
5.2.3. EXTRATO DE CAROTENOIDES DE PEQUI.....	43
5.2.4. CAROTENOIDES EM PÓ DE PEQUI	44
5.2. CARACTERIZAÇÃO DA BEBIDA ISOTÔNICA	46
5.3. ESTUDO DA ESTABILIDADE DA BEBIDA ISOTÔNICA.....	49
5.3.4. CÁLCULO DA VELOCIDADE DE DEGRADAÇÃO (KD) E DETERMINAÇÃO DO TEMPO DE MEIA VIDA (T_{1/2})	50
5.3.1. ANÁLISE OBJETIVA DA COR.....	50
5.3.2. CAROTENOIDES	57
5.3.3. CAPACIDADE ANTIOXIDANTE	59
5.4. AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DA BEBIDA ISOTÔNICA DURANTE ARMAZENAMENTO	60
5.5. ANÁLISE SENSORIAL DA BEBIDA ISOTÔNICA	64
5.5.1. TESTE DE ACEITAÇÃO DA BEBIDA ISOTÔNICA	64
6. CONCLUSÃO	67
7. REFERÊNCIAS.....	68
APÊNDICE.....	75

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Composição do permeado da ultrafiltração de diferentes origens.....	7
Tabela 2: Composição da polpa de pequi.....	13
Tabela 3: Compostos bioativos do pequi	14
Tabela 4: Tempos utilizados no estudo de estabilidade para avaliação das alterações nas variáveis de cor e no teor de carotenoides, em bebidas isotônicas armazenadas sob diferentes condições.	27
Tabela 5: Valores médios dos rendimentos do processamento dos pequis	37
Tabela 6 - Valores médios (\pm desvio-padrão) das características físicas e químicas do permeado, polpa de pequi in natura, extrato de carotenoides e carotenoides de pequi em pó encapsulados.....	39
Tabela 7: Valores médios (\pm desvio-padrão) das características físicas e químicas da bebida isotônica elaborada com permeado da ultrafiltração do soro de leite adicionado de carotenoides em pó de pequi.	47
Tabela 8: Média das coordenadas de cor (\pm desvio-padrão) das amostras de bebidas isotônicas armazenadas em diferentes condições de luz e temperatura após o estudo de estabilidade.	51
Tabela 9: Estimativa dos coeficientes cinéticos para alterar a coordenada de cor C* de bebidas isotônicas, em diferentes condições de armazenamento.	53
Tabela 10: Estimativa dos coeficientes cinéticos para alterar a coordenada de cor h* de bebidas isotônicas, em diferentes condições de armazenamento.	55
Tabela 11: Estimativa dos coeficientes cinéticos para alterar o teor de carotenoides de bebidas isotônicas, em diferentes condições de armazenamento.	58
Tabela 12: Valores médios (\pm desvio-padrão) da capacidade antioxidante pelos radicais ABTS e DPPH em amostras de bebidas isotônicas em diferentes condições de luz e temperatura e tempo de armazenamento.	60
Tabela 13: Contagens microbiológicas de coliformes a 35 °C, fungos filamentosos e leveduras, mesófilos aeróbios e pesquisa de <i>Salmonella</i> spp. em amostras da bebida isotônica.....	63
Tabela 14: Valores médios (\pm desvio-padrão) das notas para os atributos sensoriais avaliados para as bebidas isotônicas formuladas com permeado da ultrafiltração do soro de leite adicionado de carotenoides em pó de pequi e aroma natural de abacaxi ou maracujá	65
Tabela 15: Índice de aceitabilidade para as diferentes formulações de bebidas isotônicas	66

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ultrafiltração do soro de leite..	6
Figura 2. Pequi (<i>Caryocar brasiliense</i> Camb.).	11
Figura 3 Estruturas químicas dos carotenoides pesquisados pela importância para a saúde.17	
Figura 4: Fluxograma geral da obtenção dos carotenoides em pó de pequi.....	24
Figura 5: Escala hedônica de nove pontos para avaliar a aceitação da bebida isotônica à base de permeado de ultrafiltração do soro de leite, apresentada aos provadores em temperatura de refrigeração.	36
Figura 6 - Polpa de pequi <i>in natura</i>	43
Figura 7: Extrato de carotenoides de pequi.	44
Figura 8: Carotenoides em pó de pequi.....	45
Figura 9: Teste índice de separação de fases das bebidas isotônicas após 30 min. A: Temperatura ambiente (25 °C); B: Temperatura de refrigeração (4 °C).....	49
Figura 10: Bebidas isotônicas armazenadas em diferentes condições de luz e temperatura. Presença de luz a 25 °C após 30 dias (A); presença de luz a 4 °C após 30 dias (B); ausência de luz a 25 °C após 40 dias (C) e ausência de luz a 4 °C após 60 dias (D).	51
Figura 11: Variação da coordenada de cor L* das bebidas isotônicas elaboradas com permeado da ultrafiltração do soro de leite adicionado de carotenoides em pó de pequi armazenadas durante 30 dias, 40 dias e 60 dias.	52
Figura 12: Variação da coordenada de cor C* das bebidas isotônicas armazenadas durante 30 dias, 40 dias e 60 dias.	53
Figura 13: Variação da coordenada de cor h* das bebidas isotônicas armazenadas durante 30 dias, 40 dias e 60 dias.	55
Figura 14: Variação da impressão global da cor ΔE das bebidas isotônicas armazenadas durante 30 dias, 40 dias e 60 dias.	56
Figura 15: Variação do teor de carotenoides das bebidas isotônicas armazenadas durante 30 dias, 40 dias e 60 dias.	57

RESUMO

FERREIRA, Letícia Rocha, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, junho de 2017. **Bebida isotônica formulada a base de permeado obtido da ultrafiltração do soro de leite adicionado de carotenoides em pó de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.)**. Orientadora: Edimar Aparecida Filomeno Fontes. Coorientadores: Paulo César Stringheta e Afonso Mota Ramos.

O permeado da ultrafiltração do soro de leite possui naturalmente sais minerais e vitaminas hidrossolúveis. Os carotenoides, corantes naturais presentes na polpa de pequi apresentam capacidade antioxidante e atividade pró-vitáminica A. Por serem lipossolúveis, para que fossem adicionados ao permeado para elaboração de bebidas, os carotenoides foram emulsificados pela secagem em camada de espuma. Assim, os objetivos desse trabalho foram elaborar uma bebida isotônica tendo como base o permeado da ultrafiltração do soro de leite com adição de carotenoides em pó de pequi 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 das bebidas foram realizadas análises microbiológicas (coliformes a 35 °C, fungos filamentosos e leveduras, mesófilos aeróbios, psicrotróficos e *Salmonella*), análises físicas (coordenadas de cor: L*, a*, b*, C* e h*) e químicas (pH, ATT, SST, osmolalidade, minerais, carotenoides totais e capacidade antioxidante pelos radicais ABTS e DPPH). Durante o estudo de estabilidade das bebidas formuladas foram realizadas as mesmas análises microbiológicas descritas anteriormente, análises de determinação do teor de carotenoides e do valor das coordenadas de cor L*, C*, h* e ΔE . Foi realizado também um teste de aceitação sensorial com potenciais consumidores da bebida para obter informações sobre a aceitabilidade da bebida. Em relação às análises microbiológicas, as bebidas apresentaram ausência de coliformes e *Salmonella* spp. e baixa contagem dos demais microrganismos em todas as condições analisadas durante todo o período do teste de estabilidade. Na avaliação da osmolalidade (314,89 mOsmol·L⁻¹) e na concentração do mineral sódio (662 mg·L⁻¹) evidenciou-se que a bebida encontra-se dentro dos padrões de qualidade e identidade para essa categoria. Os resultados para pH, ATT, SST, potássio, fósforo cálcio e magnésio foram respectivamente, 3,66; 0,51% m·v⁻¹; 7,9 °Brix; 1363,73 mg·L⁻¹; 295,27 mg·L⁻¹; 294,40 mg·L⁻¹ e 62,25 mg·L⁻¹. O conteúdo de carotenoides totais para a bebida formulada foi igual a 1,9 mg·100 mL⁻¹. Pelas coordenadas de cor, as bebidas formuladas apresentaram tonalidades de cores claras e vivas, com valores de a*, b*,

C* e h* respectivamente iguais a, 59,16; -3,78; 15,77; 16,22 e 103,48°, indicando que as bebidas tenderam à tonalidade próxima ao amarelo. A capacidade antioxidante pelos radicais ABTS e DPPH foram respectivamente 10,79 μmol de Trolox $\cdot 100 \text{ mL}^{-1}$ e 73,38 μmol de Trolox $\cdot 100 \text{ mL}^{-1}$. O estudo de estabilidade das bebidas revelou que o conteúdo de compostos bioativos é determinante no tempo de vida útil delas. A presença de luz exerceu maior influência do que a temperatura sob os efeitos de estabilidade dos carotenoides e de cor. A condição de refrigeração (4 °C) e ausência de luz apresentou ser a mais eficiente no armazenamento dessas bebidas. O teste de aceitabilidade, envolvendo 100 provadores não treinados, evidenciou que a bebida isotônica teve aceitação por parte do público-alvo, os quais são os praticantes de exercícios físicos, em todos os atributos (cor, sabor, aroma e impressão global), que não diferiram estatisticamente ($p > 0,05$), tanto para formulação com aroma de abacaxi como o de maracujá, que se situaram entre as notas 5 (indiferente) e 6 (gostei ligeiramente). O atributo cor foi o atributo com melhor aceitação. Conclui-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 os carotenoides em pó de pequi, além de colorir o produto, pode trazer benefícios à saúde pela presença de compostos bioativos.

ABSTRACT

FERREIRA, Letícia Rocha, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, June, 2017. **Isotonic drink formulated based on permeate from ultrafiltration of whey added of carotenoids of pequi in powder (*Caryocar brasiliense* Camb.)**. Adviser: Edimar Aparecida Filomeno Fontes. Co-advisers: Paulo César Stringheta and Afonso Mota Ramos.

The permeate from the ultrafiltration of the whey naturally possesses mineral salts and water soluble vitamins. Carotenoids, natural dyes present in the pequi pulp, have antioxidant capacity and pro-vitamin A activity. Because they are liposoluble, to be added to the beverage permeate, the carotenoids were emulsified by foam-mat drying. Thus, the objectives of this work were to elaborate an isotonic drink based on the ultrafiltration permeate of the whey with the addition of pequi powder carotenoids and to evaluate the stability of the beverage formulated in the presence and absence of light at 4 °C and 25 °C, for a period of 60 days of storage. In the characterization of the drinks, microbiological analyzes (coliforms at 35 °C, filamentous fungi and yeasts, aerobic mesophiles, psychrotrophic and *Salmonella* spp.), physical analyzes (color coordinates: L*, a*, b*, C* and h*) and chemical analyzes (pH, ATT, SST, osmolality, minerals, total carotenoids and antioxidant capacity by ABTS and DPPH radicals) were made. During the stability study of the formulated beverages, the same microbiological analyzes described above were carried out, analyzes of determination of the carotenoid content and the value of the color coordinates L*, C*, h* and ΔE . A sensory acceptance test was also conducted with potential drink consumers to obtain information on the acceptability of the beverage. Regarding the microbiological analyzes, the drinks showed absence of coliforms and *Salmonella* spp. and low counting of the other microorganisms in all conditions analyzed during the whole period of the stability test. In the evaluation of the osmolality ($314.89 \text{ mOsmol}\cdot\text{L}^{-1}$) and in the sodium mineral concentration ($662 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) it was evidenced that the beverage meets the quality and identity standards for this category. The results for pH, ATT, SST, potassium, calcium phosphorus and magnesium were, respectively, 3.66; $0.51\% \text{ m}\cdot\text{v}^{-1}$; 7,9 °Brix; $1363.73 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$; $295.27 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$; $294.40 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ and $62.25 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. The total carotenoid content for the formulated beverage was equal to $1.9 \text{ mg}\cdot 100 \text{ mL}^{-1}$. By the color coordinates, the formulated beverages showed bright and vivid color shades, with values of a*, b*, C* and h* respectively equal to 59,16; -3.78; 15.77; 16,22 and $103,48^\circ$, indicating that the drinks tended to be close to yellow. The antioxidant capacity of the ABTS and DPPH radicals was respectively $10.79 \mu\text{mol of Trolox}\cdot 100 \text{ mL}^{-1}$ and $73.38 \mu\text{mol of Trolox}\cdot 100 \text{ mL}^{-1}$. The

stability study of the beverages showed that the content of bioactive compounds is determinant in their shelf life. The presence of light exerted greater influence than temperature under the effects of carotenoid stability and color. The cooling condition (4 °C) and absence of light presented the most efficient storage of these beverages. The acceptability test, involving 100 untrained testers, showed that the isotonic drink was accepted by the target audience, who are physical exercise practitioners, in all attributes (color, flavor, aroma and overall impression), which Did not differ statistically ($p > 0.05$) for both pineapple and passion fruit flavoring, which ranged between notes 5 (indifferent) and 6 (slightly liked). The color attribute was the best accepted attribute. It is concluded that permeate is an excellent base for the formulation of isotonic beverages because it is rich in mineral salts, and the use of natural dyes such as pequi powder carotenoids, besides coloring the product, can bring health benefits by the presence of bioactive compounds.

1. INTRODUÇÃO

O leite é um alimento de grande importância nutricional, conseqüentemente, produtos lácteos também possuem grande importância na dieta para a maioria da população mundial. No Brasil, o Estado de Minas Gerais é o maior produtor de leite e também é o Estado que mais produz queijo, produto que também apresentou crescimento na produção nos últimos anos. Durante a fabricação do queijo é gerado um coproduto lácteo chamado soro de leite, esse representa a parte aquosa do leite que se separa do coágulo.

O soro de leite possui grande importância na indústria de laticínios devido à sua composição nutricional e pelos grandes volumes produzidos (na produção de 1 a 2 kg de queijo são gerados de 8 a 9 kg de soro de leite) e cerca de 50% do soro de leite não é aproveitado, suscitando desperdícios financeiros, nutricional e impactos ambientais significativos devido ao elevado teor de matéria orgânica do soro de leite.

Com o propósito de minimizar e sanar esses problemas, as indústrias de produtos lácteos vem adotando a utilização de processos de separação por membranas. A tecnologia de ultrafiltração por membranas é utilizada para retenção de macromoléculas do soro de leite e possibilita o aproveitamento total e seletivo de todos componentes e o desenvolvimento de novos produtos.

Na ultrafiltração do soro de leite, a proteína do soro é concentrada e removida e é obtido o permeado do soro de leite, coproduto composto, principalmente, por lactose, sais, nitrogênio não proteico e água.

O permeado da ultrafiltração do soro de leite possui aplicações limitadas e grande parte de sua produção é descartada como um efluente de laticínios. As práticas atuais seguidas pelas indústrias de laticínios para lidar com permeado de soro incluem descartá-lo como lixo, no solo, venda do pó do permeado seco e incorporação em rações para animais. Embora seja biodegradável, seu descarte no meio ambiente contribui significativamente para a poluição da água e do solo. Sua eliminação eficaz, muitas vezes requer extensos pré-tratamentos e, portanto, contribui para os custos operacionais dos laticínios. Desse modo, encontrar novas aplicações para o permeado de soro é crucial.

As principais vitaminas e nutrientes naturais do permeado da ultrafiltração do soro de leite e suas características osmolíticas, o tornam uma base promissora para formulações de produtos destinados a auxiliar na hidratação de pessoas que praticam atividades esportivas, como as bebidas isotônicas. Bebidas isotônicas são assim intituladas devido à equivalência

entre sua pressão osmótica e as condições de pressão osmótica sanguínea. Essa característica favorece uma rápida ação de reposição hidroeletrólítica e consequente aumento da velocidade de absorção de nutrientes.

O emprego de extratos naturais de frutas como corante e ingrediente com propriedades funcionais em alimentos e bebidas tipo isotônicas, torna-se interessante para as indústrias de alimentos devido ao crescimento do mercado de produtos alimentícios benéficos à saúde. O pequi, um dos principais frutos do Cerrado, possui como principal constituinte os carotenoides. Esses são reconhecidos como as principais fontes de vitamina A e desempenham alguns papéis fundamentais na saúde humana, apresentando efeitos benéficos na prevenção de cânceres, doenças coronarianas e degeneração macular.

No entanto, os carotenoides são sensíveis a luz, altas temperaturas e ao oxigênio, características que os tornam muito susceptíveis à degradação durante seu processamento e armazenamento, sendo necessários vários cuidados para minimizar suas perdas. Uma alternativa frente a esses fatores consiste na técnica de encapsulação. Essa é caracterizada como um processo físico no qual uma camada polimérica ou um filme fino é aplicado para envolver o composto ativo de interesse com o intuito de isolá-lo e protegê-lo de condições ambientais adversas, além de preservar sua capacidade antioxidante.

Um método que torna possível a obtenção de carotenoides de pequi em pó é a secagem em camada de espuma. Nela os carotenoides são convertidos em espuma estável pela incorporação de considerável volume de ar na presença de agentes de formação de espuma, estabilizador e material de parede. A espuma é seca por aplicação de calor e resulta em um pó seco de fácil reidratação. Essa técnica possui diversas vantagens como utilização de temperaturas mais baixas de secagem, baixo preço e tempos de secagem mais curtos quando comparado à outras técnicas de secagem para obtenção de partículas porosas.

Assim, este trabalho teve como objetivo elaborar uma bebida à base do permeado obtido do processo de ultrafiltração do soro leite com adição do corante natural de pequi encapsulado pelo método de secagem em camada de espuma, bem como avaliar suas características físicas, químicas, microbiológicas, aceitação sensorial e sua estabilidade durante armazenamento sob diferentes condições de armazenamento (ausência e presença de luz nas temperaturas de 4 °C e 25 °C) durante por 60 dias.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Desenvolver uma bebida tendo como base da formulação o permeado da ultrafiltração do soro de leite com adição de carotenoides em pó de pequi.

2.2. Objetivos específicos

- Caracterizar por análises físicas e químicas as matérias-primas (permeado da ultrafiltração do soro de leite e polpa de pequi *in natura*), o extrato de carotenoides de pequi (obtido por extração com acetona) e as bebidas formuladas;
- Obter os carotenoides em pó de pequi pela técnica de secagem em camada de espuma do extrato de carotenoides de pequi para serem utilizados como corantes naturais em formulações de bebidas e caracterizá-los por análises físicas e químicas;
- Formular bebidas, tendo como propósito inicial, apresentar características químicas que as denominam isotônicas e que apresentem cor amarela;
- Realizar um estudo de estabilidade de amostras de bebidas formuladas com permeado da ultrafiltração do soro de leite adicionado de carotenoides em pó de pequi armazenadas por 60 dias sob diferentes condições de exposição a luz (presença e ausência) e temperatura de estocagem (4 °C e 25 °C);
- Verificar as condições de processamento e possíveis alterações microbiológicas durante o tempo de armazenamento das bebidas formuladas por meio de análises microbiológicas;
- Realizar análise sensorial do produto por meio do teste de aceitação.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Leite e soro de leite

O leite é um alimento de grande importância nutricional por apresentar todos os macro e micronutrientes necessários para manutenção da vida de recém nascidos, crianças pequenas, bem como no reforço da qualidade da dieta humana em geral. Conseqüentemente, produtos lácteos constituem um elemento importante da dieta para a maioria da população mundial (HANDFORD; CAMPBELL; ELLIOTT, 2015) e um importante papel para a economia (FAEDO et al., 2013).

Nas últimas décadas, o consumo de produtos lácteos teve um rápido crescimento, entretanto, o leite de consumo ainda é o produto mais importante em volume. A Índia hoje é o maior produtor de leite do mundo (18%), seguido pelos Estados Unidos (12%), China e Brasil (ambos 4%) (HANDFORD; CAMPBELL; ELLIOTT, 2015).

O Estado de Minas Gerais é o maior produtor de leite no Brasil. No ano de 2014, sua produção foi de aproximadamente 9,36 bilhões de litros de leite, o que corresponde a 26,6% do total de 35,17 bilhões de litros produzidos no país (EMBRAPA GADO DE LEITE, 2015).

Minas Gerais também é o maior produtor de um dos produtos lácteos de grande importância, o queijo. Esse também tem apresentado um crescimento na produção nos últimos anos (CORTEZ et al., 2015). A produção de soro de leite decorrente dos queijos no Brasil é de aproximadamente 6,03 milhões de toneladas (SIQUEIRA; MACHADO; STAMFORD, 2013).

O soro de leite representa a parte aquosa do leite que se separa do coágulo e é descrito como líquido opaco de cor amarelo-esverdeado que, possui grande importância na indústria de laticínios devido a composição nutricional e pelos grandes volumes gerados (a produção de 1 a 2 kg de queijo dão origem a soro de leite entre 8 a 9 kg) (PINHEIRO ALVES et al., 2014; BALDASSO; BARROS; TESSARO, 2011). A partir de três operações principais: coagulação enzimática, precipitação ácida no pH isoelétrico das caseínas ($pI = 4,6$) e pela separação física das micelas por microfiltração em membranas de $0,1 \mu m$, são obtidos as proteínas do soro e um concentrado proteico de micelas (PINHEIRO ALVES et al., 2014).

Durante muito tempo, o soro de leite foi utilizado para alimentação animal ou descartado em corpos d'água, provocando a destruição da fauna e flora devido ao seu alto valor de demanda bioquímica de oxigênio (DBO), que varia entre 30000 a 50000 $mg \cdot L^{-1}$. Esse índice é aproximadamente 100 vezes maior que o de um esgoto doméstico. Cada vez mais a legislação ambiental exige das indústrias de laticínios um plano de tratamento ou reaproveitamento desse

soro (DAS et al., 2016; LIRA et al., 2009). Geralmente, os grandes laticínios utilizam o soro de leite na produção de bebidas lácteas e suplementos, no entanto, as quantidades produzidas representam cerca de 15%, sendo a maior parte gerada por empresas de pequeno e médio porte (ANDRADE; NETO; LOPES, 2016).

Globalmente, a cada ano são gerados entre 115 e 160 milhões de toneladas de soro de leite (HAGEN et al., 2014), já a produção nacional está estimada em 6,03 milhões de toneladas (SIQUEIRA; MACHADO; STAMFORD, 2013) dos quais a metade é utilizada em produtos alimentícios ou para fermentação, enquanto o restante é descartado (HAGEN et al., 2014). O não aproveitamento de cerca de 50% do soro de leite gera desperdícios financeiro, nutricional e impactos ambientais significativos, já que se trata de um resíduo com elevado teor de matéria orgânica (SIQUEIRA; MACHADO; STAMFORD, 2013).

3.2. Permeado da ultrafiltração do soro de leite

A tecnologia de separação utilizando membranas tem apresentado significativo progresso nos últimos anos. A ultrafiltração é um dos processos dessa tecnologia que possui a maioria das aplicações nas indústrias de laticínios no desnate do leite e na concentração do soro de leite (KAZEMIMOGHADAM; MOHAMMADI, 2007).

Membranas são barreiras permeáveis ou semipermeáveis, normalmente, um fino polímero sólido que restringe seletivamente a transferência de massa entre duas fases. A separação dos componentes de uma mistura é realizada pela retenção daqueles que não possuem tamanho para atravessar os poros da membrana. É baseada em mecanismos físicos e não envolve processos biológicos, químicos ou aquecimento (FAEDO; BRIÃO; CASTOLDI, 2013), características que tornam o processo de concentração mais econômico (BALDASSO; BARROS; TESSARO, 2011).

A eficiência desse tipo de filtração depende inteiramente da diferença de tamanho entre o poro e a partícula a ser removida (FAEDO et al., 2013). A separação por membranas pode ser classificada de acordo com o tamanho dos poros da membrana. Na ultrafiltração o tamanho dos poros variam entre 0,05 a 2 μm e a pressão de operação entre 0,1 MPa e 3 MPa (WOJTYNIAK; KOŁODZIEJCZYK; SZANIAWSKA, 2016).

A ultrafiltração do soro do leite está representado na Figura 1. Durante esse processo originam-se duas frações: o permeado, representado pelo material que passa pela membrana e o retentado ou concentrado, material que é retido pela membrana (ANDRADE; MARTINS, 2002).

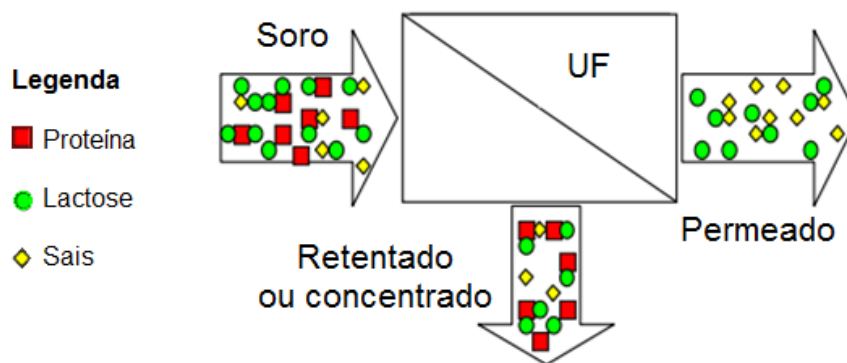


Figura 1. Ultrafiltração do soro de leite. Fonte: BALDASSO (2008).

Na ultrafiltração do soro do leite, as macromoléculas são retidas e o permeado, líquido que permeia a membrana, é composto principalmente por água, lactose, minerais, nitrogênio não proteico e compostos de baixa massa molecular como vitaminas hidrossolúveis naturalmente presentes (riboflavina, ácido pantotênico e nicotínico) (PARASHAR et al., 2015).

O processo de ultrafiltração do soro de leite é capaz de recuperar, concentrar ou fracionar componentes do soro de leite, permitindo variação da concentração dos mesmos devido à retenção de proteínas e a permeabilidade seletiva de água, minerais, lactose e compostos de baixo peso molecular (BALDASSO; BARROS; TESSARO, 2011).

A composição de permeados da ultrafiltração de diferentes origens está presente na Tabela 1.

A coloração natural amarelo-alaranjado do permeado é conferida pelo pigmento nativo do leite, riboflavina, vitamina hidrossolúvel pertencente ao complexo vitamínico B (FONTES et al., 2015). Após o processo de pasteurização lenta do permeado que, além da biotina, as vitaminas hidrossolúveis ácido pantotênico, riboflavina e ácido nicotínico permanecem presentes no permeado, pois esses nutrientes naturais não apresentam perdas detectáveis pela pasteurização lenta, podendo-se inferir que os mesmos estarão presentes em uma bebida elaborada tendo como base o permeado (DAMODARAN; PARJIN; FENNEMA, 2010).

Tabela 1: Composição do permeado da ultrafiltração de diferentes origens.

	Característica	Valor obtido	Origem do permeado	Referência
Composição centesimal	Água (% m·v ⁻¹)	97,36 ± 0,04	Leite desnatado	(FONTES et al., 2015)
		95,59 ± 0,18	Leite	(VALENTE, 2015)
		95,34 ± 0,55	Soro de leite	(SABIONI et al., 2016)
	N total (% m·v ⁻¹)	0,047 ± 0,001	Leite	(VALENTE, 2015)
		0,020 ± 0,005	Soro de leite	(SABIONI et al., 2016)
	Cinzas (% m·v ⁻¹)	0,41 ± 0,02	Leite desnatado	(FONTES et al., 2015)
		0,03 ± 0,01	Leite	(VALENTE, 2015)
		0,38 ± 0,10	Soro de leite	(SABIONI et al., 2016)
	Lactose	4,07 ± 0,16	Leite	(VALENTE, 2015)
	Carboidratos totais (% m·v ⁻¹) ⁽¹⁾	2,15 ± 0,20	Leite desnatado	(FONTES et al., 2015)
4,04 ± 0,54		Soro de leite	(SABIONI et al., 2016)	
Mineral (mg·L ⁻¹)	Osmolalidade (mOsmol·L ⁻¹)	212,1 ± 0,4	Leite desnatado	(FONTES et al., 2015)
		230,43 ± 0,65	Leite	(VALENTE, 2015)
	pH	6,58 ± 0,07	Leite desnatado	(FONTES et al., 2015)
		6,35 ± 0,51	Leite	(VALENTE, 2015)
		6,33 ± 0,24	Soro de leite	(SABIONI et al., 2016)
	Acidez Total Titulável (ATT) ⁽²⁾	0,056 ± 0,007	Leite desnatado	(FONTES et al., 2015)
		0,063 ± 0,0058	Leite	(VALENTE, 2015)
	Sólidos Solúveis Totais (SST) (°Brix)	0,08 ± 0,01	Soro de leite	(SABIONI et al., 2016)
		4,4 ± 0,41	Leite	(VALENTE, 2015)
	Coordenada de cor	Sódio	374,4 ± 0,9	Leite desnatado
454,17 ± 7,22			Leite	(VALENTE, 2015)
460,99 ± 15,10			Soro de leite	(SABIONI et al., 2016)
Potássio		763,5 ± 2,1	Leite desnatado	(FONTES et al., 2015)
		1175,00 ± 25,03	Leite	(VALENTE, 2015)
		1144,75 ± 96,05	Leite desnatado	(FONTES et al., 2015)
Cálcio		250,7 ± 13,2	Leite desnatado	(FONTES et al., 2015)
		512,11 ± 8,46	Leite	(VALENTE, 2015)
		506,11 ± 11,58	Soro de leite	(SABIONI et al., 2016)
Magnésio		52,04 ± 0,06	Leite desnatado	(FONTES et al., 2015)
	165,28 ± 32,38	Leite	(VALENTE, 2015)	
Fósforo	159,72 ± 50,19	Soro de leite	(SABIONI et al., 2016)	
	351,07 ± 11,63	Leite	(VALENTE, 2015)	
	L*	70,99 ± 0,31	Leite	(VALENTE, 2015)
	a*	-5,39 ± 0,17		
	b*	13,63 ± 0,70		
C*	14,66 ± 0,71			
h*	111,58 ± 0,41			

(1) Diferença percentual da soma dos demais nutrientes; (2) Expresso em % de ácido láctico;

Minerais com baixa massa molar como cálcio, sódio, magnésio e potássio também permeiam a membrana e conferem características eletrolíticas, além de benefícios para a saúde (FONTES et al., 2015). Os eletrólitos que permeiam a membrana estão envolvidos na maioria dos processos biológicos (PETRUS; ASSIS; FARIA, 2005)(PETRUS; ASSIS; FARIA, 2005). Além dos processos biológicos, desempenham outras funções específicas. Cálcio é um elemento fundamental para a saúde óssea, magnésio está relacionado com a prevenção de infecções pelo aumento da resistência imunológica, potássio evita câimbras e, juntamente com cálcio, apresentam importante papel na regulação da atividade neuromuscular e, juntamente com o sódio, participam da manutenção do equilíbrio hídrico normal (FONTES et al., 2015).

O permeado de soro de leite possui aplicações limitadas e grande parte de sua produção é descartada como um efluente de laticínios. As práticas atuais seguidas pela indústria de laticínios para lidar com permeado de soro incluem descartá-lo como lixo, no solo, incorporação em rações para animais e venda do pó do permeado seco. Embora seja biodegradável, seu descarte no meio ambiente contribui significativamente para a poluição da água e do solo devido à sua alta demanda bioquímica de oxigênio (4000 a 48000 mg·L⁻¹) e demanda química de oxigênio (80.000 a 95.000 mg·L⁻¹). Sua eliminação eficaz, muitas vezes requer extensos pré-tratamentos e, portanto, contribui para os custos operacionais dos laticínios. Desse modo, encontrar novas aplicações para o permeado de soro de leite é crucial (PARASHAR et al., 2015).

A manipulação de grandes volumes de permeado de soro de leite excedente não é rentável e é uma questão crítica que enfrentam as indústrias. Laticínios em todo o mundo estão atualmente à procura de estratégias alternativas para o uso rentável de permeado de soro de leite (PARASHAR et al., 2015).

A presença de nutrientes naturais e suas características osmolíticas, tornam o permeado uma base promissora para formulações de produtos destinados a auxiliar na hidratação de pessoas que praticam atividades esportivas (FONTES et al., 2015).

Diante das características apresentadas, o permeado da ultrafiltração do soro de leite pode ser utilizado no desenvolvimento de novos produtos, principalmente bebidas em vez de utilizado para alimentação animal ou causar poluição pelo descarte em corpos d'água ou solo. Bebidas isotônicas, produtos destinados à reposição de eletrólitos e reidratação de atletas e indivíduos que praticam atividade física podem ser obtidas tendo como base o permeado.

3.3. Bebidas isotônicas

A prática de atividades físicas leva à aceleração do metabolismo, levando ao esgotamento do glicogênio no fígado e músculos e a um aumento da produção de calor com consequente dissipação do mesmo pelo suor, resultando na perda de água e eletrólitos. A perda desses elementos pode levar à desidratação, afetando o desempenho físico e prejudicando a saúde. A reposição de líquidos utilizando solução isotônica pode atenuar ou prevenir muitos distúrbios metabólicos, cardiovasculares, de termorregulação e desempenho. Bebidas isotônicas podem ajudar a manter a homeostase fisiológica (MORENO et al., 2013).

Bebidas isotônicas são assim intituladas devido à equivalência entre sua pressão osmótica e as condições de pressão osmótica sanguínea. Essa característica favorece uma rápida ação de reposição hidroeletrolítica e consequente aumento da velocidade de absorção de nutrientes (VENTURINI FILHO, 2010). As bebidas isotônicas, ou apenas isotônicos, também são chamados de repositores hidroeletrolíticos (PETRUS; ASSIS; FARIA, 2005).

Segundo a Resolução RDC nº 18, de 27 de abril de 2010 da ANVISA (BRASIL, 2010), que dispõe sobre alimentos para atletas, as bebidas isotônicas prontas para consumo devem apresentar osmolalidade entre 270 e 330 mOsmol·kg⁻¹ de água, carboidratos até 8% (m·v⁻¹) do produto, sendo esses no máximo 3% (m·v⁻¹) de frutose e pode ser adicionado de potássio até 700 mg·L⁻¹ e com teor de sódio compreendido entre 460 e 1150 mg·L⁻¹. Opcionalmente, podem conter vitaminas e/ou minerais em concentrações semelhantes às encontradas nos fluidos orgânicos.

Segundo Petrus; Assis & Faria (2005), a osmolalidade ou isotonicidade da bebida depende da pressão osmótica e é calculada a partir das concentrações (em mol·L⁻¹) de cada eletrólito, sendo expressa em mOsm·L⁻¹. Diferentes valores de osmolalidade classificam as bebidas como:

- Hipotônicas: < 290 mOsmol·L⁻¹
- Isotônicas: 290 - 330 mOsmol·L⁻¹
- Hipertônicas: > 330 mOsmol·L⁻¹

O valor osmótico do plasma sanguíneo humano varia entre 285 mOsmol·L⁻¹ e 295 mOsmol·L⁻¹.

A formulação das bebidas isotônicas se destina especialmente para atletas e indivíduos que praticam exercícios por mais de uma hora, especialmente em climas quentes e úmidos. Seu uso possibilita melhor rendimento, recuperação mais rápida do corpo fatigado, além de prevenir a desidratação (VENTURINI FILHO, 2010).

O crescente interesse em alimentos com valor agregado e bebidas com propriedades de promoção da saúde tem levado ao desenvolvimento de novas bebidas baseadas em diferentes tipos de águas, sucos e bebidas não alcoólicas enriquecidas com frutas como fonte de nutrientes e compostos bioativos. A aceitação desses produtos pelos consumidores está relacionada com sua qualidade e características sensoriais que devem ser mantidas ao longo do período de vida útil (GIRONÉS-VILAPLANA et al., 2014).

Nesse contexto, o emprego de extratos naturais de frutas como pequi, como corante e ingrediente com propriedade funcional em alimentos e bebidas, torna-se vantajoso para as indústrias de alimentos devido ao crescimento do mercado de produtos alimentícios benéficos à saúde. No entanto, existem muitas limitações para a aplicação comercial de corantes naturais devido à baixa estabilidade desses corantes, tornando a aplicação dos extratos naturais dependente de fatores como: pH, temperatura, presença de oxigênio, luz, ácido ascórbico, cofatores e estrutura química.

3.4. Pequi

3.4.1 Características e ocorrências

O Cerrado brasileiro é o segundo maior bioma do Brasil, perdendo apenas para o Bioma Amazônia, estendendo-se atualmente por cerca de 200 milhões de hectares, quase 20% de todo o país (GEOCZE et al., 2013). Abrange uma grande diversidade de fauna e flora na qual *Caryocar brasiliense* Camb. (pequi) é considerada uma das espécies mais representativas comercialmente (GEOCZE et al., 2013) entre as seis espécies mais importantes do Cerrado (araticum, baru, cagaita, jatobá, mangaba e pequi). Culturalmente, o pequi é a mais importante na culinária do Cerrado. O pequizeiro floresce de junho a setembro e sua frutificação ocorre entre os meses de setembro a fevereiro do ano seguinte (MARIANO-DA-SILVA et al., 2009).

O pequi também é conhecido como piqui, amêndoa-de-espinho, piquiá-bravo, grão-de-cavalo, pequiá, pequiá-pedra e pequerim. Pertence à família *Caryocaraceae* (PESSOA et al., 2015). Seu nome genérico é derivado do grego *karyon*, que significa pedra e o latim *caro* que significa drupáceo ou fruta carnuda. Da língua indígena brasileira, a palavra pequi o *py* é equivalente a pele e *qui* a espinho. Portanto, pequi significa fruto com polpa cheia de espinhos (MARIANO-DA-SILVA et al., 2009).

O fruto do pequizeiro pesa em torno de 120 g e apresenta aproximadamente 10 cm de diâmetro (GONÇALVES et al., 2011). Pode ser caracterizado como uma drupa com a casca (exocarpo) de coloração marrom-esverdeada, mesocarpo externo formado por uma polpa

branca e mesocarpo interno, parte comestível do fruto, geralmente contendo entre 1 e 4 sementes por fruto, chamados pirênios, de coloração amarelo-claro a alaranjado escuro. Os pirênios são amplamente comercializados para a aquisição da polpa (CARDOSO et al., 2013). Esses são compostos de um endocarpo espinhoso, contendo internamente a semente ou uma amêndoa (NASCIMENTO; COCOZZA, 2015; ALVES et al., 2014) (Figura 2).

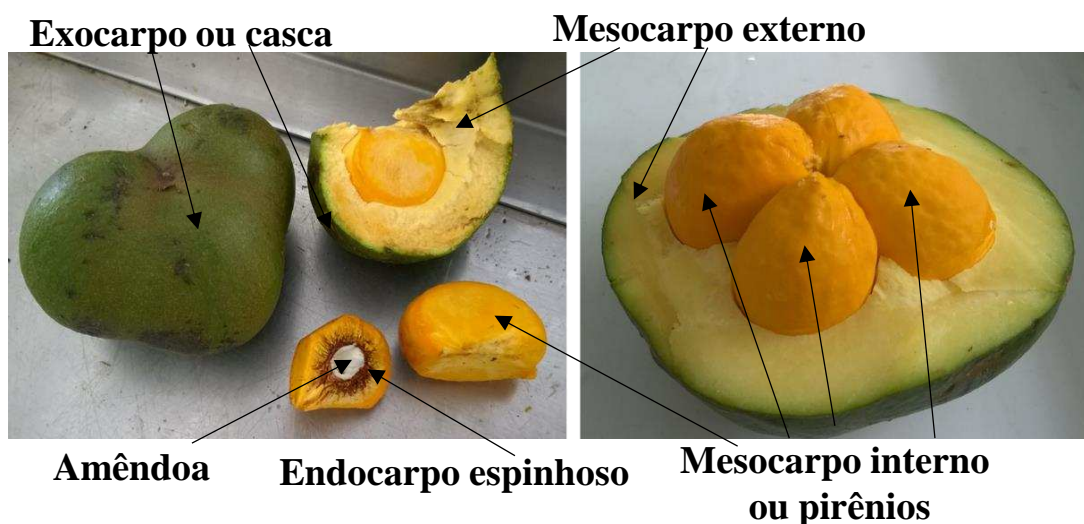


Figura 2. Pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.).

O pequi possui sabor acentuado e é característico da cozinha regional, tornando-se uma especiaria valorizada. É consumido *in natura* e/ou em preparações como pequi cozido com galinha, com arroz, com água e sal, batido com leite ou no preparo de pamonha, chocolate, vitamina, doces, bolos (REGIS; SOUZA; SILVEIRA, 2013), farinhas, xaropes, doces, sopas, sucos, sorvete, licor e geleia (OLIVEIRA et al., 2017), frutas em conserva e óleo (GEOCZE et al., 2013). Pequis também são responsáveis por parte das doses de energia e nutrientes para as famílias de baixa renda em áreas rurais (NASCIMENTO; COCOZZA, 2015).

O Estado de Minas Gerais é o principal produtor e consumidor de pequi (LIMA et al., 2007). Os maiores polos de concentração da produção estão localizados no norte do Estado e no Vale do Jequitinhonha. No entanto, ainda é pouco explorado pela população do sul de Minas Gerais, ao contrário do norte do Estado que utiliza o fruto na alimentação e como fonte de renda (VILAS BOAS et al., 2013).

Seu consumo ocorre principalmente pelas populações das regiões onde são produzidos, sendo economicamente explorados pela população do Cerrado. A alta perecibilidade e a grande quantidade de espinhos contidos em seu interior tornam sua manipulação difícil, limitando seu uso e consumo pelas demais regiões do Brasil (MACHADO; MELLO; HUBINGER, 2013).

A fim de explorar melhor seu potencial e agregar valor a esse produto brasileiro, há uma necessidade de desenvolvimento de novas formas de utilização do pequi. O mercado global de

alimentos funcionais está estimado em cerca de 167 bilhões de dólares com constante expansão, apresentando crescimento anual de cerca de 10% devido à demanda dos consumidores, por um estilo de vida mais saudável. Assim, o pequi pode ser amplamente utilizado por indústrias de alimentos na produção de produtos alimentícios funcionais, com benefícios positivos para a saúde (MACHADO; MELLO; HUBINGER, 2015).

3.4.2. Composição química e compostos bioativos do pequi

A polpa fresca de pequi apresenta alto teor de fibras, lipídios, energia e excelente valor nutritivo (CARDOSO et al., 2013). Cada 100 g de polpa de pequi contém, aproximadamente, 10,02% de fibra alimentar, 33,4% de lipídios, 3% de proteínas, fornecendo cerca de 358 kcal, o que corresponde a aproximadamente 18% das necessidades calóricas de um adulto com uma dieta de 2000 kcal e 40% das necessidades de fibra alimentar. O perfil de ácidos graxos de pequi fresco é composto principalmente de ácidos palmítico e oleico (35,4% e 55,9%, respectivamente) (LIMA et al., 2007).

Além de ser rico em ácidos graxos insaturados (principalmente ácido oleico e ácido palmítico), possui também vitaminas A, E e C, minerais, tais como fósforo, magnésio e potássio (NASCIMENTO; COCOZZA, 2015) e teores de antioxidantes naturais que beneficiam a saúde humana, tais como carotenoides e compostos fenólicos (MACHADO; MELLO; HUBINGER, 2015).

Os principais constituintes do pequi e suas concentrações estão presentes na Tabela 2 e, seus principais compostos bioativos, na Tabela 3.

Tabela 2: Composição da polpa de pequi

Característica	Valor obtido	Método	Origem	Safra	Referência
Teor de umidade ⁽¹⁾	41,50 ± 2,00	AOAC (1998)	Piauí	Dezembro de 2004	(LIMA et al., 2007)
	68,67 ± 1,05	AOAC (2002)	Sul do Cerrado	Dezembro de 2010	(RIBEIRO et al., 2014)
	72,17 ± 0,72	IAL (2005)	Tocantins	Outubro de 2009	(ALVES et al., 2014)
	74,09 ± 0,81	AOAC (2002)	Central do Cerrado	Dezembro de 2010	(RIBEIRO et al., 2014)
Proteína	1,30 ± 0,01	AOAC (2002)	Central do Cerrado	Dezembro de 2010	(RIBEIRO et al., 2014)
	1,94 ± 0,22		Sul do Cerrado	Dezembro de 2010	
	4,09 ± 0,06		Tocantins	Outubro de 2009	(ALVES et al., 2014)
Lipídios	8,39 ± 0,25	BLIGH; DYER (1959)	Tocantins	Outubro de 2009	(ALVES et al., 2014)
	13,54 ± 0,14		Sul do Cerrado	Dezembro de 2010	(RIBEIRO et al., 2014)
	33,40 ± 3,76	AOAC (1998)	Piauí	Dezembro de 2004	(LIMA et al., 2007)
Cinzas	0,63 ± 0,02	AOAC (1998)	Goiás	Dezembro de 2009	(ALVES et al., 2014)
	0,70 ± 0,03	AOAC (2002)	Sul do Cerrado	Dezembro de 2010	(RIBEIRO et al., 2014)
	1,22 ± 0,0001	AOAC (2006)	Minas Gerais	-	(SANTANA et al., 2013)
Carboidratos	16,17	Diferença	Tocantins	Outubro a novembro de 2006	(ARÉVALO-PINEDO et al., 2010)
	3,76 ⁽²⁾ ± 1,27		Sul do Cerrado	Dezembro de 2010	(RIBEIRO et al., 2014)
	0,6 ⁽²⁾ ± 0,48		Central do Cerrado	Dezembro de 2010	
pH	4,12 ± 0,06	IAL (1985)	Goiás	Novembro e Dezembro de 2006	(MARIANO-DA-SILVA et al., 2009)
	7,36	AOAC (1980)	Tocantins	Outubro a novembro de 2006	(ARÉVALO-PINEDO et al., 2010)
Acidez Total Titulável (ATT)	0,042	AOAC (1980)	Tocantins	Outubro a novembro de 2006	(ARÉVALO-PINEDO et al., 2010)
	5,32 ± 0,34	IAL (1985)	Oeste da Bahia	Dezembro de 2009	(NASCIMENTO; COCOZZA, 2015)
Sólidos Solúveis Totais (SST) ⁽³⁾	11,95 ± 2,98	AOAC (1990)	Oeste da Bahia	Dezembro de 2009	(NASCIMENTO; COCOZZA, 2015)

¹ Base úmida; ² Exceto fibras; ³ °Brix.

Compostos fenólicos são substâncias bioativas que podem exercer funções relacionadas com a prevenção de doenças devido a sua ação antioxidante. São produzidos no metabolismo secundário das plantas com a finalidade de protegê-las de infecções por patógenos e defendê-las de situações de estresse como radiação ultravioleta (REGIS; SOUZA; SILVEIRA, 2013). Os principais compostos fenólicos presentes na polpa de pequi são o ácido gálico, ácido elágico, ácido p-cumárico e ácido ferúlico (MACHADO; MELLO; HUBINGER, 2015).

Tabela 3: Compostos bioativos do pequi

Característica	Método	Valor obtido	Origem	Safra	Referência
Carotenoides totais (mg·100 g ⁻¹)	ALMEIDA; PENTEADO (1988)	7,25 ± 0,6	Piauí	Dezembro de 2004	(LIMA et al., 2007)
	IAL (1985)	13,06	Bocaiúva, Norte de MG	Janeiro de 2007	(GONÇALVES et al., 2011)
	RODRIGUEZ -AMAYA (1999)	10,64 ± 0,29	Montes Claros MG	-	(MACHADO; MELLO; HUBINGER, 2013)
Fenólicos totais (mg·100 g ⁻¹)	SWAIN; HILLIS, (1959)	66,97 ± 2,28	Japonvar, MG	-	(ALVES, 2014)
		209,0 ± 0,05	Piauí	Dezembro de 2004	(LIMA et al., 2007)
ABTS (mg de trolox·g de extrato seco ⁻¹)	RUFUNO et al. (2010)	2,44 ± 0,03	Ceasa de Campinas SP	-	(EÇA et al., 2015)
ABTS (µmol Trolox·g ⁻¹)	ARNAO, CANO E ACOSTA (2001)	1230,00 ± 0,125	Minas Gerais	Janeiro de 2010	(MORAIS et al., 2013)
DPPH (mg de trolox·g de extrato seco ⁻¹)	RUFUNO et al. (2010)	2,14 ± 0,01	Ceasa de Campinas SP	-	(EÇA et al., 2015)
DPPH (EC ₅₀ mg·L ⁻¹)	BRAND- WILLIAMS; CUVELIER; BERSET (1995)	188,50 ± 0115	Minas Gerais	Janeiro de 2010	(MORAIS et al., 2013)
DPPH (% de inibição) Extrato aquoso	NAGAI et al. (2003)	23,03 ± 0,36	Montes Claros MG	-	(MACHADO; MELLO; HUBINGER, 2013)

Segundo LIMA et al. (2007), na polpa e na amêndoa do pequi há predomínio dos ácidos graxos insaturados, respectivamente 61,35% e 52,17%. Na polpa, o ácido oleico possui maior concentração (55,87%), seguido pelo ácido palmítico (35,17%). Já os principais pró vitamínicos A, α e β carotenos, representam 10% dos pigmentos carotenoides totais da polpa de pequi.

3.5. Carotenoides

Carotenoides constituem uma família de compostos lipofílicos pigmentados que são amplamente distribuídos (LUTEROTTI et al., 2013). São representados pelas cores laranja (quando β -criptoxantina é majoritária), amarelas (quando luteína e zeaxantina são majoritários) e vermelho (quando há predominância de licopeno) (RODRIGUEZ-AMAYA, 2004).

São utilizados como corantes naturais nas indústrias de alimentos, cosméticos, farmacêuticas e de ração (VALDUGA et al., 2009). Atualmente os carotenoides utilizados industrialmente são obtidos por extração de algas e/ou plantas, por via química ou por produção microbiana (VALDUGA et al., 2009).

O grupo cromóforo responsável pelo poder corante dos carotenoides é constituído por um sistema de duplas ligações conjugadas (MATIOLI; RODRIGUEZ-AMAYA, 2003). Esses interagem com espécies reativas de oxigênio atuando como supressores de radicais livres, oxigênio singlete e oxidantes de lipídios. Como tal, são potencialmente benéficos para a saúde humana (LUTEROTTI et al., 2013). Desempenham importantes funções biológicas no ser humano, atuando na inibição de úlceras gástricas, na prevenção da fotossensibilização em algumas doenças de pele, no aumento da resposta imunológica a determinados tipos de infecção, nas propriedades antienvhecimento (AQUINO et al., 2009) e na diminuição do risco de doenças degenerativas (doenças cardiovasculares, alguns tipos de câncer, catarata e degeneração macular) e fortalecimento do sistema imunológico (VALDUGA et al., 2009).

Em alimentos, além do uso como corantes, também são empregados devido a sua capacidade antioxidante, protegendo óleos e gorduras, por sequestrarem oxigênio, oxidando-se preferencialmente (AQUINO et al., 2009) e pela atividade pró vitamínica A (VALDUGA et al., 2009).

A deficiência de vitamina A, segundo as Nações Unidas, é um problema de saúde pública, com graves consequências, principalmente para crianças dos países em desenvolvimento. A deficiência severa leva à cegueira de milhões de crianças e resulta em taxas muito altas de mortalidade (60%). Outro problema que recentemente tem sido reconhecido como um problema de saúde pública é a hipovitaminose A que também pode levar a cegueira

noturna em mulheres na idade reprodutiva. A deficiência subclínica é associada ao aumento de 23% da mortalidade (RODRIGUEZ-AMAYA, 2004).

Duas classes de carotenoides são encontradas na natureza: os carotenos, tais como β -caroteno (hidrocarbonetos lineares que podem ser ciclizados em uma ou ambas as extremidades da molécula) e os derivados oxigenados de carotenos, como luteína, violaxantina, neoxantina e zeaxantina, denominados xantofilas.

Alguns carotenoides possuem atividade pró-vitáminica A (α -caroteno, β -caroteno e β -criptoxantina) e outros como a luteína e zeaxantina, carotenoides de pigmentação amarela, são ativos contra a degeneração macular relacionada à idade e a catarata, mas sem atividade pró-vitáminica A, mas com capacidade antioxidante (DAMODARAN; PARJIN; FENNEMA, 2010).

Dos mais de 600 carotenoides naturais conhecidos, com base nas suas estruturas, aproximadamente 50 são passíveis de serem precursores de vitamina A. O β -caroteno é a provitamina A mais importante, pois possui 100% de atividade e ampla ocorrência. Os carotenoides pró vitamínicos A possuem a vantagem de não serem convertidos a vitamina A quando não há necessidade da vitamina pelo corpo humano, evitando a potencial toxidez do excesso de vitamina A.

Estruturalmente, a vitamina A (retinol) é meia molécula de β -caroteno, com uma molécula adicional de água no fim da cadeia lateral. Um anel β não substituído, com uma cadeia lateral poliênica de 11 carbonos é o requisito mínimo para que um carotenoide possa ter atividade pró-vitáminica A (RODRIGUEZ-AMAYA, 2004).

Na Figura 3 estão representadas as estruturas químicas dos carotenoides considerados de importância para a saúde.

Estudos acerca dos teores de compostos bioativos em frutos nativos do Cerrado, considerando a biodiversidade desse bioma, são escassos, ou, quando existentes, muitos estão delineados de forma inadequada (RODRIGUEZ-AMAYA; KIMURA; AMAYA-FARFAN, 2008) já que não são especificadas as espécies e nem a localização específica onde foram coletados ou adquiridos os frutos. É importante considerar que pode haver diferenças na composição química dos frutos de pequi originários de diferentes regiões do Cerrado, o que pode interferir significativamente no seu potencial antioxidante.

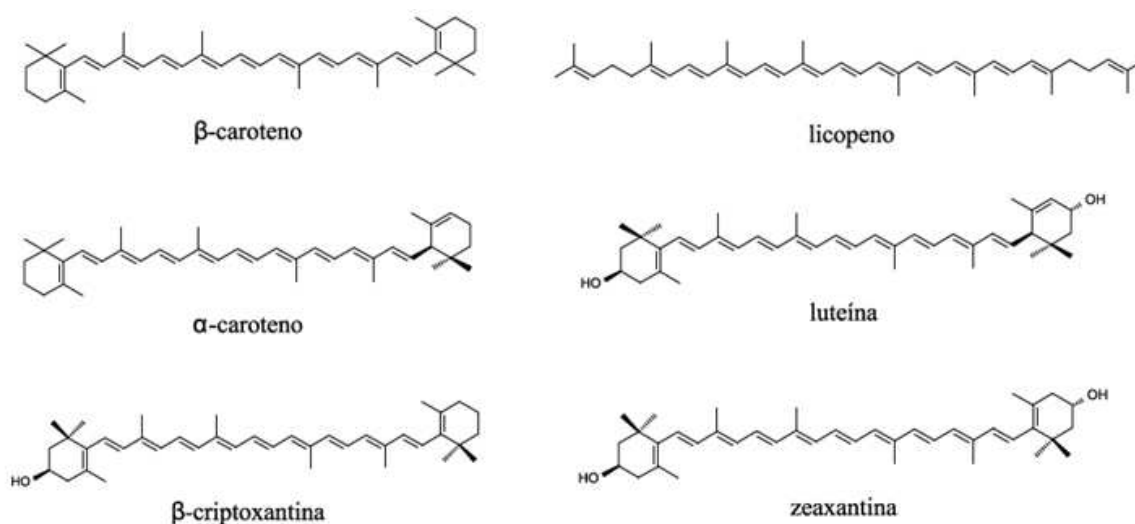


Figura 3 Estruturas químicas dos carotenoides pesquisados pela importância para a saúde.
Fonte: RODRIGUEZ-AMAYA, 2008

Carotenoides são sensíveis a luz, à exposição a ácidos e ao calor excessivo, características que os tornam muito vulneráveis durante seu processamento e armazenamento e fazem com que sejam necessários cuidados especiais para minimizar suas perdas (DAMODARAN; PARJIN; FENNEMA, 2010). O sistema de duplas ligações conjugadas responsável por diversas características benéficas também é responsável por sua instabilidade devido susceptibilidade à isomerização e oxidação, tornando a preservação de carotenoides durante o processamento e armazenamento um desafio e fonte de preocupações (MATIOLI; RODRIGUEZ-AMAYA, 2003). A exposição dos carotenoides ao calor, ao oxigênio, à luz, acidez elevada e à baixa atividade de água são fatores que podem levar a mudanças estruturais, reduzindo, assim sua atividade. Assim, cuidados especiais com relação aos métodos de processamento e armazenamento de alimentos devem ser levados em conta. (AQUINO et al., 2009).

O poder de coloração e os benefícios à saúde dos carotenoides são desejáveis para diversas aplicações, que seriam facilitadas se os mesmos fossem dispersíveis em água. Diversos estudos visam proteger pigmentos instáveis por técnicas como encapsulação (MATIOLI; RODRIGUEZ-AMAYA, 2003), técnica que pode ser aplicada aos carotenoides do pequi.

3.6. Encapsulação de pigmentos

A cor é um dos mais importantes atributos dos alimentos. Nos últimos anos corantes sintéticos têm sido cada vez mais considerados indesejáveis ou prejudiciais por parte dos consumidores e muitos países têm limitado seu uso. O interesse no desenvolvimento de corantes alimentares provenientes de fontes naturais como alternativa aos corantes sintéticos tem aumentado por causa da preocupação dos consumidores (ÖZKAN; BILEK, 2014).

Indústrias alimentícias vêm pesquisando novas maneiras de substituir os corantes artificiais pelos naturais em seus processos produtivos (MOREIRA et al., 2014). Geralmente, corantes naturais são mais sensíveis à luz, temperatura e pH. Carotenoides apresentam também problema de solubilidade em água e possível redução da atividade pró vitamínica A quando sofrem isomerização das formas *trans* às formas *cis* pela presença de luz e altas temperaturas (ÖZKAN; BILEK, 2014).

Outro desafio tecnológico enfrentado pela indústria de alimentos é o desenvolvimento de alimentos funcionais por meio da adição de compostos bioativos.

A baixa solubilidade em água dos carotenoides, compostos altamente lipofílicos, torna sua adição dificultada em muitos alimentos e limita sua biodisponibilidade, acarretando em uma menor absorção pelo trato gastrointestinal. Assim, torna-se evidente para a indústria de alimentos a necessidade de desenvolvimento de sistemas para proteger e liberar os compostos bioativos presentes nos alimentos funcionais (MARQUES et al., 2015).

Dessa forma, uma alternativa frente a esses fatores e para aumentar a estabilidade dos compostos bioativos em condições ambientais adversas na estocagem e processamento (luz, temperatura e oxigênio) e preservar sua capacidade antioxidante, por reduzir sua degradação, consiste na técnica de encapsulação (MARQUES et al., 2015). Essa é caracterizada como um processo físico no qual uma camada polimérica ou um filme fino é aplicado para envolver líquidos, sólidos ou gases, com o intuito de isolá-los e protegê-los de condições ambientais como ar, luz, umidade entre outras (MATIOLI; RODRIGUEZ-AMAYA, 2003).

No processo de encapsulação partículas de interesse como acidulantes, enzimas, pigmentos, compostos de sabor e nutrientes são empacotadas em cápsulas comestíveis. O material encapsulado é denominado de núcleo ou recheio e o material que forma a cápsula, encapsulante, de parede ou de cobertura. Cápsulas podem ser classificadas de acordo com seus tamanhos em 3 categorias: nanocápsulas (< 0,2 μm), microcápsulas (0,2 a 5000 μm) e macrocápsulas (> 5000 μm) (AZEREDO, 2005).

Dentre os objetivos da encapsulação de componentes de alimentos estão: proteger os componentes do núcleo, reduzir as interações e reatividade com fatores ambientais externos, retardar alterações que podem resultar em perdas de aroma, alteração da cor ou perda do valor nutricional por alterações de vitaminas, enzimas, proteínas e sais minerais durante processos industriais, além de controlar a liberação dos compostos do núcleo como, por exemplo, por evaporação (que é muito rápida no caso de compostos de sabor não encapsulados), promover a manipulação mais fácil, mascarar possíveis sabores indesejáveis do núcleo e diluir os compostos do núcleo no produto final (ESTEVINHO et al., 2013).

O agente encapsulante é escolhido em função da aplicação pretendida, das propriedades físicas e químicas e do método utilizado.

Dentre as principais características que devem possuir os materiais de parede podem-se citar: não devem ser reativos com o material a ser encapsulado, devem apresentar baixa viscosidade em concentrações elevadas, baixa higroscopicidade, evitar formação de aglomerados, ser de fácil manipulação, ter habilidade de reter e selar o material ativo dentro da estrutura da cápsula, proporcionar máxima proteção ao material encapsulado contra condições adversas (ingredientes reativos, luz, oxigênio, pH), não apresentar sabor desagradável, ser solúvel em solventes comumente utilizados, liberar completamente os solventes utilizados no processo de encapsulação e ser econômico (SUAVE et al., 2006).

Maltodextrinas de diferentes valores de dextrose equivalente (DE), amidos modificados, gomas arábicas, e algumas proteínas são os mais comumente usados como materiais de parede. Maltodextrinas são polissacarídeos nutritivos sem sabor adocicado obtidas pela hidrólise ácida parcial de amidos (de batata, milho e outros). Possuem sabor suave, solubilidade elevada em água, baixa viscosidade e formam soluções incolores. Estão disponíveis em diferentes pesos moleculares que fornecem diferentes densidades de parede em torno dos materiais encapsulados. São classificadas pelo seu grau de hidrólise, expresso em dextrose equivalente (DE), que é o percentual de açúcares redutores em relação à base seca de amido calculados como glicose (ÖZKAN; BILEK, 2014).

É crescente a quantidade de métodos de encapsulação e é previsível que esse número continue crescendo à medida que forem surgindo novos materiais encapsulantes e novos princípios ativos que requeiram processamentos específicos para a sua encapsulação. A escolha do método mais adequado depende do tipo do material a ser encapsulado, da aplicação e do mecanismo de liberação desejado para a sua ação. A diferença básica entre os métodos existentes está no tipo de envolvimento ou aprisionamento do material ativo pelo agente

encapsulante, visto que a combinação entre o material e o agente ativo pode ser de natureza física, química ou físico-química.

Os principais métodos empregados no processo de encapsulação são caracterizados em físicos (*spray chilling*, *spray cooling*, *spray drying*, extrusão, liofilização e secagem em camada de espuma), químicos (polimerização interfacial, inclusão molecular) e físico químicos (coacervação, envolvimento lipossômico e separação por fase orgânica). No entanto, nenhuma das técnicas citadas se aplica a todos os tipos de produtos que se deseja encapsular, exigindo, cuidados particulares e requerendo métodos com características apropriadas (CONSTANT, 1999).

A necessidade de conservar corantes naturais tem incentivado o desenvolvimento de novas pesquisas nesse âmbito (VALDUGA et al., 2009). A encapsulação de corantes naturais pode ser uma alternativa para a substituição de corantes artificiais na indústria de alimentos.

Dentre as diversas técnicas de encapsulação aplicadas em diferentes carotenoides como apresentados nos trabalhos de: Alves (2014) que encapsulou extrato de carotenoides da polpa de pequi por secagem atomização; Nunes & Mercadante (2007) que encapsularam licopeno por atomização ou inclusão molecular com liofilização; Constant (1999) que microencapsulou bixina pela técnica de atomização e Yuan et al. (2013) que encapsularam astaxantina por liofilização.

Outra técnica que torna possível a encapsulação dos carotenoides de pequi é a secagem em camada de espuma como apresentado no trabalho de Pinto (2012).

3.6.1. Secagem em camada de espuma

Secagem é uma operação complexa que envolve transferência de calor e massa, além de transformações químicas e físicas que podem causar alterações na qualidade do produto.

A secagem em camada de espuma, também chamada de secagem em leito de espuma (em inglês *foam mat drying*) é um processo no qual um material líquido ou semissólido é convertido em espuma estável pela incorporação de considerável volume de ar (usualmente por bateção) na presença de um agente de formação de espuma e um estabilizador (QADRI; SRIVASTAVA, 2014). A espuma é seca por aplicação de calor e resulta em um pó seco (FRANCO et al., 2015). Os produtos obtidos possuem as vantagens de produtos desidratados como maior estabilidade frente a microrganismos deterioradores, redução da velocidade de reações químicas e bioquímicas, redução do custo de embalagem e transporte durante o armazenamento.

A secagem em camada de espuma apresenta como vantagens baixo custo e acessibilidade, uso de temperaturas mais baixas de secagem e tempos de secagem mais curtos atribuídos à maior área de superfície exposta ao ar (FRANCO et al., 2016) (aproximadamente três vezes mais rápida do que a secagem de uma camada similar de líquido (BAPTESTINI et al., 2015)), permitindo velocidades de secagem relativamente mais elevadas quando comparado à outras técnicas de secagem para se obterem partículas porosas fácil reidratação (FRANCO et al., 2016), maior retenção de cor, sabor, vitaminas (principalmente o ácido ascórbico), características nutricionais e sensoriais e ausência de qualquer sabor ou odor de cozido ou queimado além do aumento da vida útil do produto (KADAM; BALASUBRAMANIAN, 2011).

Esse método foi desenvolvido por Morgan e colaboradores em 1959 e atualmente tem recebido atenção renovada devido a sua capacidade de retenção dos compostos bioquímicos importantes que podem ser perdidos durante a secagem de material por outros métodos (KADAM et al., 2012). Essa característica é conferida pela não necessidade de aplicação de altas temperaturas para a secagem, que auxilia a preservar os nutrientes e reduzir as taxas de escurecimento.

Assim, este método pode ser usado em alimentos sensíveis ao calor, viscosos e com alto teor de açúcar, originando um pó que é facilmente reidratado e apresenta características tais como cor, sabor, textura e composição nutricional (principalmente, antioxidantes) semelhante a matéria-prima. Para essas habilidades, a técnica de secagem em camada de espuma tem sido aplicada em vários tipos de alimentos, como sucos de frutas, iogurte, feijão e microrganismos (FRANCO et al., 2015).

Dentre os trabalhos nos quais foram obtidos alimentos desidratados pela técnica de secagem em camada de espuma podem-se citar o de Kadam; Wilson; Kaur (2010) que obtiveram e avaliaram propriedades bioquímicas de polpa de manga em pó, Branco et al. (2016) que desidrataram e verificaram a qualidade de uvaia em pó, Kandasamy Y. et al. (2014) que otimizaram os parâmetros do processo de secagem em camada de espuma da polpa de mamão papaia. E o trabalho de Pinto (2012), que utilizou a técnica de secagem em camada de espuma para encapsular extrato de carotenoides de pequi.

4. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados em laboratórios pertencentes à Universidade Federal de Viçosa (UVF), Campus Viçosa, Minas Gerais e a análise sensorial da bebida isotônica foi realizada no laboratório de Análise Sensorial da UFV com alunos da Associação Atlética Acadêmica - LUVE/UFV.

4.1. Obtenção da matéria prima

4.1.1. Permeado da ultrafiltração do soro de leite

O permeado da ultrafiltração do soro de leite (permeado) foi obtido a partir da ultrafiltração do soro de leite originado da produção de queijo Minas frescal.

O sistema de ultrafiltração (WGM Sistemas) foi equipado com membrana espiral de polisulfona/poliamida, com massa molar de corte de 10 kDa. Durante o processo, a temperatura foi mantida entre 45 °C e 50 °C para maximizar o fluxo do permeado, minimizar a precipitação de sais de cálcio e a desnaturação de proteínas. A variação da pressão aplicada ao soro de leite foi de 0,1 MPa, sendo a pressão de entrada igual a 0,3 MPa e a de saída 0,2 MPa. A área filtrante da membrana foi equivalente a 6 m².

Porções de 1 L do permeado obtido foram envasadas em embalagens de polietileno previamente esterilizadas e estocadas em *freezer* (-20 °C).

Para posterior utilização nas análises de caracterização físicas e químicas e na elaboração da bebida, porções de permeado foram descongeladas sob refrigeração a 7 °C.

4.1.2. Pequi *in natura*

Foram utilizados pequis (*Caryocar brasiliense* Camb.) da safra de 2015, provenientes de Santana do Pirapama-MG, situada a 19° 00 21 S (latitude) e 44° 02 35 W (longitude).

Os frutos foram processados na Planta Piloto de Conservas Vegetais. Depois de selecionados, foram lavados, sanitizados (por imersão em solução de hipoclorito a 100 ppm por 15 minutos), cortados, separando manualmente os pirênios (caroços) das cascas e despulpados em despulpadeira mecânica (Itametal[®], modelo Bonina 0.25 df).

Porções de aproximadamente 200 g das polpas foram envasadas em sacolas plásticas de polietileno. Essas foram armazenadas em *freezer* (-20 °C) até o início das análises, sendo descongeladas de acordo com a quantidade necessária para cada ensaio, sob descongelamento lento em refrigerador a 7 °C por 24 h.

4.1.3. Emulsificante e encapsulante

Para o processo de secagem em camada de espuma foram utilizados os emulsificantes Lecitina de soja em pó (Êxodo Científica[®]) e Emustab[®] (Duas Rodas Industrial Ltda.), produto com características emulsificantes e estabilizantes.

O agente encapsulante utilizado foi a Maltodextrina DE10 gentilmente fornecido pela empresa GEMACOM TECH Indústria e Comércio Ltda.

4.2. Obtenção de carotenoides em pó de pequi

Na Figura 4 está representado o fluxograma geral da obtenção de carotenoides em pó de pequi indicando as etapas prévias, desde o processamento do pequi *in natura*, seguido pela obtenção do óleo de pequi (extratos de carotenoides de pequi) e sua subsequente secagem em camada de espuma.

Para obtenção dos carotenoides em pó de pequi foram utilizados procedimentos nas condições otimizadas de extração e obtenção adotadas por Pinto (2012), com modificações, descritas a seguir.

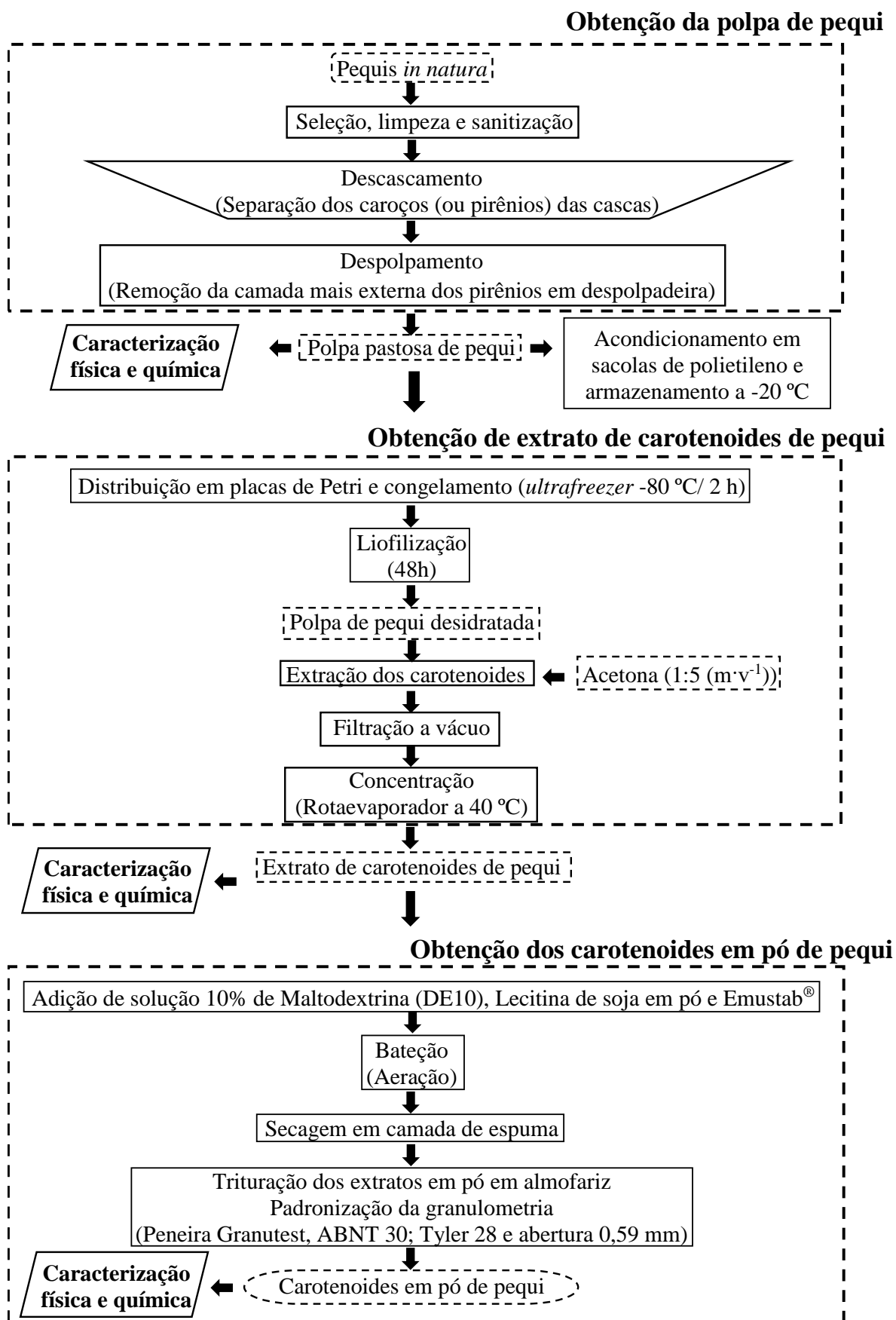


Figura 4: Fluxograma geral da obtenção dos carotenoides em pó de pequi.

4.2.1 Polpa de pequi desidratada

A desidratação da polpa pastosa de pequi foi realizada por liofilização. A polpa foi disposta em placas de Petri e congelada em *ultrafreezer* (-80 °C por 2 h). Posteriormente foi liofilizada durante 48 h em liofilizador (Terroni, modelo Fauvel LH 0400/4 L). Após a secagem, a polpa liofilizada foi removida das placas com auxílio de espátulas de plástico, acondicionada em frascos de vidro envoltos em papel alumínio e armazenada em *freezer* (-20 °C) até sua utilização.

4.2.2. Extração dos carotenoides de pequi

Para minimizar a fotodegradação de carotenoides, todo o procedimento foi realizado em ambiente escuro e as vidrarias envoltas em papel alumínio.

Em béqueres de vidro foram adicionadas polpa de pequi desidratada e acetona resfriada na proporção 1:5 (m·v⁻¹). O preparado foi agitado vigorosamente com auxílio de bastão de vidro e deixado sob refrigeração (8 °C por 30 h), sendo revolvido o material após 8 h e 22 h. Após 30 h, o material foi filtrado em funil de Büchner com papel de filtro (Unifil, quantitativo, C41, faixa preta, 9,0 cm Ø) com auxílio de bomba de vácuo (SL 60 Solab). Acetona foi removida em rotaevaporador (Heidolph Laborota, 4000) a 40 °C, obtendo um extrato oleoso de pequi contendo carotenoides que será referido ao longo do trabalho como extrato de carotenoides de pequi.

Os extratos de carotenoides de pequi foram armazenados em frascos de vidro envoltos em papel alumínio e acondicionados em freezer (-20 °C) até a caracterização e uso.

4.2.3. Obtenção dos carotenoides em pó de pequi pela técnica de secagem em camada de espuma

Todo o procedimento descrito a seguir foi realizado em béqueres de plástico.

A solução encapsulante de maltodextrina (DE 10) foi preparada na concentração 10% (m·m⁻¹) em relação à base seca de maltodextrina. A dissolução da maltodextrina em água destilada foi realizada com auxílio de um agitador mecânico (AGI 103, Nova Ética) na velocidade de 504 rpm por 10 min.

Todas as concentrações descritas a seguir em % (m·m⁻¹) serão sempre em relação à massa total da solução.

Aos 93% da solução 10% de maltodextrina foram adicionados 1% ($\text{m}\cdot\text{m}^{-1}$) de lecitina de soja em pó. Essas foram homogeneizadas em agitador mecânico na velocidade de 504 rpm por 10 min.

Em seguida, 5% ($\text{m}\cdot\text{m}^{-1}$) do emulsificante Emustab[®] foi incorporado à mistura anterior e homogeneizado novamente (504 rpm por 3 min). Na sequência, foi acrescentado 1% ($\text{m}\cdot\text{m}^{-1}$) de extrato de carotenoides de pequi ao béquer e, novamente introduzida a haste do agitador mecânico na velocidade de 504 rpm por mais 5 min para adequada homogeneização.

A mistura foi resfriada em banho de gelo e mantida a 5 °C, quando foi submetida à operação de bateção utilizando bateadeira doméstica (Walita[®]) na velocidade máxima (nível 3) por 5 minutos para obtenção da espuma.

A espuma foi disposta em bandejas de alumínio de formato circular (30 cm de diâmetro e 1 cm de altura) e, em seguida, as bandejas foram colocadas em secador de bandejas (Polidryer) com velocidade do ar igual a $1,3 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$ (medida com anemômetro de fio quente) a 60 °C. A redução do conteúdo de água foi determinada por pesagens das bandejas em balança digital (BEL Engineering, A42207C) no início da secagem e, posteriormente, até atingir massa constante.

O material seco obtido, carotenoides em pó de pequi, foi removido das bandejas com auxílio de uma espátula de plástico, macerado em almofariz e a granulometria foi padronizada por peneiramento (peneira Granutest, ABNT 30; Tyler 28 e abertura 0,59 mm).

Após padronização da granulometria, os carotenoides em pó de pequi foram armazenados em frascos de plástico estéreis envoltos em papel alumínio e acondicionados em *freezer* (-20 °C) até serem caracterizados e utilizados na formulação da bebida.

4.3.Elaboração da bebida

Para definir a formulação final da bebida desse experimento, foram realizados testes preliminares com diferentes concentrações de carotenoides em pó de pequi (1%, 2%, 3% e 4% ($\text{m}\cdot\text{v}^{-1}$)) com o propósito da bebida final apresentar características isotônicas de acordo com os padrões exigidos pelo Regulamento Técnico sobre alimentos para atletas (BRASIL, 2010). Outros critérios considerados foram a cor e a concentração de carotenoides nas bebidas testes.

Definida a melhor formulação, foram elaboradas bebidas em maior escala para a realização do estudo de estabilidade, caracterização física e química, análises microbiológicas e sensorial.

Para elaboração da bebida, inicialmente, o permeado foi acidificado até pH igual a 3,5 pela adição de ácido cítrico. Após a correção do pH, sucralose foi adicionada na concentração igual a 0,0075% ($m \cdot v^{-1}$). Posteriormente, foi realizado um pré-aquecimento até 40 °C, seguido de pasteurização lenta (62-65 °C·30 min⁻¹) e imediato resfriamento rápido até 40 °C. Após atingir essa temperatura, foram adicionados os conservantes químicos (benzoato de sódio (0,05% ($m \cdot v^{-1}$)) e sorbato de potássio (0,01% ($m \cdot v^{-1}$))) seguido de resfriamento até 20 °C para a adição dos carotenoides de pequi encapsulados e do aroma idêntico ao natural sabor abacaxi (0,01% ($m \cdot v^{-1}$)). Para a análise sensorial foi elaborada também uma formulação com adição de aroma idêntico ao natural sabor maracujá (0,01% ($m \cdot v^{-1}$)).

As bebidas formuladas foram distribuídas em frascos de vidros transparentes e âmbar de capacidade de 60 mL previamente esterilizados (121 °C por 15 minutos).

4.4. Delineamento experimental

O experimento para estudo da estabilidade da bebida isotônica formulada com carotenoides em pó de pequi tendo como base o permeado foi conduzido no delineamento inteiramente casualizado em esquema de parcela subdividida. Sendo na parcela um esquema fatorial (2x2) tendo como fatores: luz (ausência e presença) e temperaturas de armazenamento: de refrigeração (4 °C ± 2 °C) e ambiente (25 °C ± 2 °C).

Na subparcela teve como fator o tempo (em dias) de armazenamento de amostras das bebidas em cada tratamento representado na Tabela 4.

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

Tabela 4: Tempos utilizados no estudo de estabilidade para avaliação das alterações nas variáveis de cor e no teor de carotenoides, em bebidas isotônicas armazenadas sob diferentes condições.

Condição	Tempo (dias)
Luz/25 °C	0; 0,125; 0,25; 0,375; 0,5; 1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 14; 21 e 30
Luz/4°C	0; 0,125; 0,25; 0,375; 0,5; 1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 14; 21 e 30
Ausência de luz/25 °C	0; 1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 14; 21; 30 e 40
Ausência de luz/4 °C	0; 1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 14; 21; 30; 40; 50 e 60

Para avaliar o efeito da luz, frascos transparentes foram colocados sob lâmpadas de cor branca na faixa de temperatura de cor correspondente à luz do dia, que mais se aproxima da luz do sol (~6500 Kelvin), mantendo distância em torno de 4 cm entre si, protegidas de qualquer outra fonte de luz, a 25 °C (lâmpadas de LED), e os demais, em geladeira display a 4 °C (lâmpadas fluorescentes).

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

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

4.5. Análises físicas e químicas

Amostras de polpa de pequi, extrato de carotenoides de pequi, carotenoides em pó de pequi, permeado e bebidas formuladas foram caracterizadas por análises físicas e químicas.

Da polpa de pequi foram determinados a composição centesimal (água, proteínas, lipídios, resíduo mineral fixo (RMF) e carboidratos totais), pH, acidez total titulável (ATT), sólidos solúveis totais (SST), cor, carotenoides totais, capacidade antioxidante (ABTS e DPPH) e polifenóis totais.

Em amostras de extratos de carotenoides de pequi foram determinados o teor de lipídios, atividade de água (aw), SST, cor, carotenoides totais, capacidade antioxidante (ABTS e DPPH) e polifenóis totais.

Dos carotenoides em pó de pequi foram determinados a composição centesimal (água, proteína, lipídios, RMF e carboidratos totais), aw, pH, ATT, SST, cor, carotenoides totais, capacidade antioxidante (ABTS e DPPH) e polifenóis totais.

Do permeado foram determinados a composição centesimal (água, nitrogênio total, RMF, carboidratos totais (lactose)), pH, ATT, SST, minerais (sódio, potássio, fósforo, cálcio e magnésio), cor e osmolalidade.

Amostras das bebidas formuladas foram submetidas às mesmas análises do permeado além da determinação do teor de carotenoides totais, capacidade antioxidante (ABTS e DPPH), índice de separação de fase, análises microbiológicas e sensorial.

4.5.1. Composição centesimal

As determinações das composições centesimais do teor de água, proteínas, lipídios, resíduo mineral fixo (RMF) seguiram as normas analíticas da AOAC (2006) e a determinação

de lactose foi realizada de acordo com procedimento analítico descrito por Gomes e Oliveira (2011). Os carboidratos totais foram determinados por meio da diferença percentual da soma das demais análises de composição centesimal.

4.5.2. pH, acidez total titulável e sólidos solúveis totais

As análises de pH, acidez total titulável (ATT) e sólidos solúveis totais (SST) seguiram as normas analíticas da AOAC (2006).

4.5.3. Atividade de água

Foi realizada por leitura direta em medidor de atividade de água (Aqualab, Decagon. Modelo 3TE, Pullman, Washington, EUA) a 25 °C.

4.5.4. Determinação de minerais

Inicialmente, todas as vidrarias foram desmineralizadas por submersão em solução de HCl 20% ($v \cdot v^{-1}$) por 24 horas e depois enxaguada com água deionizada por 3 vezes.

Para determinação dos minerais sódio, potássio, cálcio, magnésio e fósforo as amostras foram digeridas segundo metodologia descrita por Gomes e Oliveira (2011).

A digestão consistiu na pesagem de exatamente cerca de 1 g de amostra, em erlenmeyers de 25 mL previamente desmineralizados, sendo, em seguida, adicionados 15 mL de solução de ácido nitroperclórico (3+1 ($v \cdot v^{-1}$)). 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 balões volumétricos de 25 mL previamente desmineralizados e completados com água deionizada.

As concentrações de sódio e potássio foram determinadas por fotometria de chama (Celm FC-280), enquanto as de cálcio, magnésio por meio de absorção atômica (Spectraa 220FS) e fósforo por espectrofotometria de absorção atômica (Femto 600S) utilizando-se de curvas analíticas para quantificação de cada mineral.

4.5.5. Carotenoides totais

O teor de carotenoides foi determinado por análise espectrofotométrica, conforme metodologia descrita por Rodriguez-Amaya (2001).

Foram pesados exatamente cerca de 0,5 g de amostra de polpa de pequi e extrato de carotenoide e extrato de carotenoide em pó de pequi e 2 g de bebida isotônica. A cada amostra foram adicionados 10 mL de acetona refrigerada. Em seguida, as amostras foram filtradas e transferidas para um funil de separação contendo aproximadamente 30 mL de éter de petróleo e lavadas com água destilada, descartando-se a fase inferior. O resíduo foi lavado por mais quatro vezes ou até que a acetona fosse totalmente removida. Posteriormente a solução de carotenoides foi filtrada em papel filtro contendo sulfato de sódio anidro para remoção de água e recolhida em um Becker. O filtrado obtido foi concentrado em rotaevaporador a 35 °C e os carotenoides foram redissolvidos em éter de petróleo e o volume completado para 5 mL em balão volumétrico. A leitura foi realizada em espectrofotômetro digital (UV BEL Photonics SP 1105) no comprimento de onda de 450 nm. Para o cálculo do teor de carotenoides totais foi utilizada a Equação 1:

$$CT = 1000 \cdot \frac{A_{450 \text{ nm}} \cdot V}{A_{1 \text{ cm}}^{1\%} \cdot b \cdot m} \quad (1)$$

Em que,

CT = Carotenoides totais

$A_{450 \text{ nm}}$ = Absorbância da solução no comprimento de onda de 450 nm;

V = Volume final da solução (mL);

$A_{1 \text{ cm}}^{1\%}$ = Coeficiente de absortividade molar do β -caroteno em éter de petróleo (2592);

b = espessura da cubeta (cm);

m = massa de amostra (g).

4.5.6. Capacidade antioxidante

O valor TEAC (capacidade antioxidante equivalente ao trolox) foi calculado com base na curva analítica de Trolox, preparada com soluções do padrão, nas mesmas condições das amostras.

As curvas das amostras foram obtidas de acordo com o procedimento descrito a seguir:

Pequi

A polpa de pequi, previamente descongelada sob refrigeração, foi pesada e em seguida, adicionada de água destilada, na proporção 1:3 (m·m⁻¹) polpa: solvente, deixando-se sob agitação por 2 h a temperatura ambiente (25 °C). Em seguida, o material foi filtrado a vácuo. O extrato foi acondicionado em frasco âmbar a -20 °C.

A curva de amostra para quantificação da capacidade antioxidante pelo ensaio cátion ABTS variou de 0 a 125 mL·L⁻¹, já na quantificação pelo ensaio cátion DPPH variou de 0 a 500 mL·L⁻¹.

Extratos de carotenoides de pequi e carotenoides em pó de pequi

A quantificação da capacidade antioxidante pelos cátions ABTS e DPPH dos extratos de carotenoides de pequi (obtidos pela extração com acetona) e dos carotenoides em pó de pequi (obtidos pela secagem em camada de espuma) foram realizadas a partir de curvas das amostras com concentrações que variaram entre 0 a 1000 g·L⁻¹ com adição de água destilada. As amostras foram pesadas diretamente nos tubos de ensaio onde foram realizadas as reações.

Bebidas isotônicas

As concentrações das curvas das amostras para quantificação da capacidade antioxidante (pelos cátions ABTS e DPPH) das bebidas isotônicas foi obtida pela diluição das bebidas em água destilada. Essas variaram entre 0 a 1000 g·L⁻¹.

4.5.6.1. Ensaio do cátion radical ABTS

A capacidade antioxidante determinada pelo ensaio do cátion radical ABTS foi realizada segundo metodologia descrita por Re et al. (1999).

Em um recipiente âmbar, foram misturadas as soluções de ABTS 7 mmol·L⁻¹ e de persulfato de potássio 2,45 mmol·L⁻¹ na proporção 1:1 (v·v⁻¹). A mistura permaneceu sob abrigo da luz durante 12 h para a geração do cátion cromóforo ABTS^{•+}. Após esse período, foram realizadas leituras em espectrofotômetro (UV BEL Photonics SP 1105) no comprimento de onda 734 nm, previamente calibrado com etanol 80% (branco). Inicialmente o radical foi diluído em etanol 80% até atingir absorvância de $0,700 \pm 0,005$ (solução ABTS^{•+}).

Em tubos de ensaio foram adicionados 0,5 mL de diferentes diluições das amostras e 3,5 mL de solução ABTS^{•+}, seguido de homogeneização em agitador de tubos. A absorbância foi lida após 6 min de reação, no mesmo comprimento de onda.

O valor TEAC foi calculado com base na curva analítica de Trolox, preparada com soluções do padrão de concentrações entre 0 e 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, nas mesmas condições das amostras.

4.5.6.2. Ensaio do cátion radical DPPH

A capacidade antioxidante também foi determinada pelo ensaio do cátion radical DPPH segundo metodologia descrita por Brand-Williams; Cuvelier; Berset (1995).

Uma solução estoque metanólica de DPPH foi preparada com concentração de 60 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ em ambiente escuro e 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, e em seguida homogeneizada em agitador de tubos.

Posteriormente, os tubos foram armazenados em repouso ao abrigo da luz durante 25 min. Após este período, foi feita a leitura da absorbância a 515 nm em espectrofotômetro (UV BEL Photonics, SP 1105) previamente calibrado com metanol (branco).

Para a quantificação da capacidade antioxidante, foi construída previamente uma curva analítica de diferentes diluições metanólicas da solução padrão Trolox, com concentrações que variam entre 0 a 600 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, nas mesmas condições das amostras.

4.5.7. Compostos fenólicos totais

A determinação dos fenólicos totais seguiu a metodologia descrita por Swain; Hillis (1959) utilizando-se o reagente de Folin Ciocalteu por método colorimétrico. A leitura da absorbância da solução final (após estabilização da reação) foi realizada a 725 nm em espectrofotômetro (UV BEL Photonics, SP 1105). A quantidade de polifenóis totais foi calculada com base na curva analítica de ácido gálico P.A. variando entre 0 e 200 μg . O conteúdo fenólico total foi obtido por regressão linear dos padrões de ácido gálico e o valor final expresso em mg AGE (ácido gálico equivalente) por 100 g de peso úmido.

Para se processar a reação, em tubos de ensaios foram adicionados: 1,0 mL da amostra (pequi *in natura*, extrato de carotenoides ou carotenoides em pó de pequi) diluída em água destilada (para cair na faixa da curva padrão), 7,5 mL de água destilada e 0,5 mL do reativo de

Folin Ciocalteu, sendo o tubo agitado vigorosamente. Os tubos foram deixados em repouso por 3 minutos, quando foram adicionados 1,0 mL de solução de carbonato de sódio saturada (catalizador da reação). Os tubos permaneceram em repouso por mais uma hora (1 h) ao abrigo da luz, à temperatura ambiente (25 ± 2 °C). A solução branco foi preparada nas mesmas condições que a amostra, sendo o volume da amostra substituído por 1,0 mL de água destilada. A curva padrão também seguiu o mesmo procedimento, sendo o volume da amostra substituído por 1,0 mL de cada concentração de ácido gálico (previamente preparada em água destilada).

4.5.8. Medida da osmolalidade

Os valores da osmolalidade do permeado da ultrafiltração do soro de leite e das bebidas foram determinados segundo Gomes & Oliveira (2011), por meio de medidas do ponto de congelamento das amostras, utilizando crioscópio eletrônico (ITR MK540). O valor da osmolalidade (OSM em $\text{mOsmol}\cdot\text{L}^{-1}$) foi obtido a partir da Equação 2:

$$\text{OSM} = 1000 \cdot \frac{\Delta T_c}{K_c} \quad (2)$$

Em que,

ΔT_c : Abaixamento da temperatura do ponto de congelamento (°C);

K_c : Constante crioscópica da água ($1,86$ °C $\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$).

4.5.9. Análise objetiva da cor

Na avaliação objetiva da cor foi utilizado o sistema de cor CIELAB, sendo os índices de cor as coordenadas: L^* (luminosidade), a^* (variação entre o verde e o vermelho) e b^* (variação entre azul e amarelo) determinados no aparelho ColorQuest XE (Hunter Lab, Reston, VA), conectado a um computador provido do sistema software Universal. O equipamento foi devidamente calibrado para reflectância incluída, ângulo de observador de 10° e iluminante D_{65} .

A partir dos valores de a^* e b^* , foram calculados os valores do índice de saturação (C^*), ângulo de tonalidade (h^*) e diferença de cor (ΔE), conforme Equações 3; 4 e 5.

$$C^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad (3)$$

$$h^* = \arctan\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \quad (4)$$

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (5)$$

4.5.10. Índice de separação

Foi determinado segundo metodologia descrita por ROLAND et al. (2003). Provetas contendo 100 mL das bebidas isotônicas foram armazenadas nas temperaturas nas quais foram realizados os testes de estabilidade da bebida (4 °C e 25 °C). Foram medidas as alturas iniciais das suspensões nas provetas (A_0). Após 0,5; 1; 2; 4; 6 e 24 h foram medidas as alturas da fase aquosa (inferior) (A_1). O índice de separação (IS) foi calculado por meio da Equação 6:

$$IS = 100 \cdot \left(\frac{A_1}{A_0} \right) \quad (6)$$

4.6. Estudo de estabilidade da bebida isotônica

Nesse estudo foi avaliada a cinética de degradação ou alteração das variáveis cor (C^* e h^*) e carotenoides totais.

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).

Todo experimento foi realizado em três repetições experimentais e as análises em duplicata.

4.6.1. Cálculo da velocidade de degradação (k_d)

Para determinação da constante de velocidade de degradação ou alteração foi admitida a cinética de primeira ordem (Equação 7).

$$\ln \left(\frac{C}{C_0} \right) = -k_d \cdot t \quad (7)$$

Em que, C é a concentração ou valor da variável após o tempo de armazenamento das bebidas isotônicas sob condições de luz e temperatura controladas (propostos no estudo) e C_0 a concentração 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 alteração foram estimadas para cada combinação de luz e temperatura.

4.6.2. 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 das relações de primeira ordem (Equação 8):

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k_d} \quad (8)$$

4.7. Avaliação microbiológica da bebida durante armazenamento

A bebida isotônica foi elaborada com padrões de higiene necessários de forma a minimizar ao máximo o risco de contaminação.

Com objetivo de verificar as condições de processamento e averiguar se houve alguma alteração microbiológica durante o tempo de estocagem, sob as condições de armazenamento propostas no estudo de estabilidade, foram realizadas análises microbiológicas.

O tempo máximo em que as bebidas isotônicas ficaram estocadas, de acordo com o teste de estabilidade, determinou o tempo em que deveriam ser realizadas as análises microbiológicas. Para as condições presença de luz (4 °C e 25 °C) o tempo de estocagem foi igual a 30 dias, para as armazenadas na ausência de luz armazenadas a 25 °C, 40 dias, já para as armazenadas a 4 °C, 60 dias.

As análises microbiológicas foram realizadas segundo metodologia padronizada pela *American Public Health Association* (APHA, 2001), sendo avaliados o número mais provável de coliformes a 35 °C, as contagens de microrganismos mesófilos aeróbios, fungos filamentosos e leveduras, psicotróficos e identificação de presença ou ausência de *Salmonella* spp..

4.8. Análise sensorial da bebida isotônica

Foram produzidas duas formulações de bebidas isotônicas, uma com aroma de abacaxi; e outra, de maracujá. As bebidas foram distribuídas em frascos de vidro com capacidade de aproximadamente 300 mL previamente esterilizados (121 °C por 15 minutos).

4.8.1. Teste de aceitabilidade da bebida isotônica

As avaliações autorizadas pelo Comitê de Ética (CAAE: 56368416.7.0000.5153) foram realizadas por 105 atletas, provadores não treinados, da Associação Atlética Acadêmica – LUVE/UFV no laboratório de Análise sensorial da Universidade Federal de Viçosa, MG.

Antes da análise foi entregue aos provadores o termo de consentimento livre e esclarecido, o qual foi lido e assinado pelos mesmos.

A aceitação das bebidas isotônicas formuladas foi avaliada utilizando a escala hedônica de nove pontos (Figura 5). As duas amostras foram apresentadas refrigeradas (4 °C) em copos descartáveis transparentes de 50 mL marcados com um código de três dígitos. Esses foram apresentados de forma monádica, sequencial e aleatória aos julgadores. A cada avaliação, os

juízes foram instruídos a enxaguar a boca com água para retirar possíveis resíduos no interior da boca.

Também foi avaliado o Índice de Aceitabilidade (IA) da bebida. Para o cálculo, foi adotada a Equação 9:

$$IA (\%) = 100 \cdot \frac{A}{B} \quad (9)$$

Em que:

A: Nota média obtida pelo produto

B: Nota máxima dada ao produto

<p>Nome: _____ 246</p> <p>Sexo: F () M () Idade ____ Data: __/__/____</p> <p>Você está recebendo uma amostra codificada, avalie-a utilizando a escala abaixo para descrever o quanto você gostou e desgostou. Ao lado, escreva a numeração que melhor reflete seu julgamento.</p> <p>9 - Gostei extremamente 8 - Gostei muito 7 - Gostei moderadamente 6 - Gostei ligeiramente 5 - Indiferente 4 - Desgostei ligeiramente 3 - Desgostei moderadamente 2 - Desgostei muito 1 - Desgostei extremamente</p> <p>Cor: _____ Sabor: _____ Aroma: _____ Impressão global: _____</p> <p>Comentários: _____</p>	<p>Nome: _____ 573</p> <p>Sexo: F () M () Idade ____ Data: __/__/____</p> <p>Você está recebendo uma amostra codificada, avalie-a utilizando a escala abaixo para descrever o quanto você gostou e desgostou. Ao lado, escreva a numeração que melhor reflete seu julgamento.</p> <p>9 - Gostei extremamente 8 - Gostei muito 7 - Gostei moderadamente 6 - Gostei ligeiramente 5 - Indiferente 4 - Desgostei ligeiramente 3 - Desgostei moderadamente 2 - Desgostei muito 1 - Desgostei extremamente</p> <p>Cor: _____ Sabor: _____ Aroma: _____ Impressão global: _____</p> <p>Comentários: _____</p>
---	---

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

4.9. Análise estatística

Os dados foram interpretados por análise de variância (ANOVA), utilizando teste t (análise sensorial) e teste de Tukey (análises físicas e químicas) em nível de 5% de probabilidade. Para efetuar as análises estatísticas, utilizou-se o programa *Statistical Analyses System* (SAS), versão 9.4 licenciado para uso pela Universidade Federal de Viçosa.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Processamento dos pequis *in natura* e rendimentos das extrações

5.1.1. Polpa de pequi

Os resultados referentes aos rendimentos do processamento do pequi *in natura* para obtenção da polpa de pequi encontram-se na Tabela 5.

Tabela 5: Valores médios dos rendimentos do processamento dos pequis

Variável	Rendimento (% , $m \cdot m^{-1}$)
Cascas (mesocarpo externo)	63,51
Pirênio (endocarpo espinhoso) a partir do fruto <i>in natura</i>	25,48
Polpa a partir do pirênio	17,83
Polpa a partir dos frutos <i>in natura</i>	4,54

O processamento dos pequis *in natura* foi iniciado pelo descascamento manual dos frutos e os pirênios (endocarpo espinhoso) foram separados das cascas (mesocarpo externo). A massa das cascas representou 63,51% da massa dos frutos e os pirênios 25,48%. Esses foram despulpados em despulpadeira mecânica, gerando, ao final do processo, a polpa de pequi. A obtenção da polpa de pequi a partir dos frutos *in natura* teve rendimento igual a 4,54% e a partir dos pirênios, 17,83%.

Cordeiro, Cavallieri, Ferri & Naves (2013) ao avaliar as características físicas de pequis de diferentes locais do Mato Grosso que foram descascados e despulpados manualmente obtiveram como resultados que a massa total dos frutos é composta por cerca de 80% de cascas, 12% de pirênios e 5% de polpa. Os autores indicam que as variações nas características físicas dos pequis podem ser devido às diferenças nos locais de coletas dos frutos e das condições edafoclimáticas entre esses locais.

A polpa de pequi *in natura* foi liofilizada para subsequente extração de carotenoides do pequi. O rendimento da liofilização da polpa de pequi *in natura* teve como resultado 53,30%.

O extrato de carotenoides de pequi foi obtido a partir da polpa de pequi desidratada pela liofilização. A extração foi feita com acetona durante 30 h e teve como rendimento 38,33%.

A partir do extrato de carotenoides de pequi foram obtidos os carotenoides em pó de pequi com massa de aproximadamente 8 vezes a massa inicial do extrato de carotenoides de pequi.

5.2. Caracterização das matérias-primas

Na Tabela 6 estão representados os valores médios e desvio-padrão dos resultados das análises físicas e químicas realizadas para caracterizar as matérias primas (permeado da ultrafiltração do soro de leite e polpa de pequi *in natura*) bem como os extratos de carotenoides de pequi e os carotenoides em pó de pequi.

Tabela 6 - Valores médios (\pm desvio-padrão) das características físicas e químicas do permeado, polpa de pequi in natura, extrato de carotenoides e carotenoides de pequi em pó encapsulados.

Características		Permeado ⁽¹⁾	Polpa de pequi <i>in natura</i>	Extrato de carotenoides	Carotenoides em pó de pequi
Composição centesimal	Água, % ($m \cdot m^{-1}$)	95,07 \pm 0,10	53,30 \pm 1,05	-	3,71 \pm 1,01
	Proteína, % ($m \cdot m^{-1}$)	0,018 \pm 0,001 ⁽²⁾	2,66 \pm 0,10	-	ND
	Lipídios, % ($m \cdot m^{-1}$)	-	34,14 \pm 0,68	99,92 \pm 1,17	17,09 \pm 0,91
	Cinzas, % ($m \cdot m^{-1}$)	0,35 \pm 0,02	0,53 \pm 0,00	-	0,69 \pm 0,02
	Carboidratos totais, % ($m \cdot m^{-1}$)	3,63 \pm 0,03 ⁽³⁾	8,70 \pm 0,94	-	78,52 \pm 0,73
	Osmolalidade ($mOmol \cdot L^{-1}$)	232,23 \pm 3,30	-	-	-
	Atividade de água	-	-	0,57 \pm 0,03	0,54 \pm 0,03
	pH	6,54 \pm 0,08	6,65 \pm 0,01	-	6,96 \pm 0,07
	Acidez total titulável, % ($m \cdot v^{-1}$)	0,057 \pm 0,003 ⁽⁴⁾	0,17 \pm 0,01 ⁽⁵⁾	-	0,09 \pm 0,00 ⁽⁵⁾
	Carotenoides totais ($mg \cdot 100 g^{-1}$)	-	16,17 \pm 1,33	55,03 \pm 4,88	1,33 \pm 0,49
Polifenóis totais ($mg AGE \cdot 100 g^{-1}$)	-	90,48 \pm 2,03	22,55 \pm 0,18	193,72 \pm 5,41	
Sólidos solúveis totais ($^{\circ}Brix$)	5,0 \pm 0,0	6,0 \pm 0,0	27,5 \pm 0,0	71,2 \pm 0,0	
Mineral ($mg \cdot L^{-1}$)	Sódio	591,71 \pm 0,00	-	-	-
	Potássio	1351,17 \pm 0,00	-	-	-
	Fósforo	276,41 \pm 6,43	-	-	-
	Cálcio	360,75 \pm 33,94	-	-	-
	Magnésio	62,25 \pm 1,06	-	-	-
Coordenada de cor	Coordenada L*	62,34 \pm 0,95	62,85 \pm 0,83	23,20 \pm 0,13	78,93 \pm 2,38
	Coordenada a*	-4,29 \pm 0,10	30,32 \pm 1,87	2,53 \pm 0,13	2,88 \pm 1,59
	Coordenada b*	13,49 \pm 0,53	32,68 \pm 0,75	2,88 \pm 0,03	39,98 \pm 4,67
	Índice de saturação (C*)	14,15 \pm 0,54	44,58 \pm 1,82	3,84 \pm 0,07	37,11 \pm 4,71
	Ângulo de tonalidade (h*)	107,67 \pm 0,31	47,18 \pm 1,11	48,72 \pm 1,65	85,56 \pm 2,20
CA	ABTS (μmol equivalente de trolox $\cdot g^{-1}$)	-	3,55 \pm 0,55	0,10 \pm 0,01	0,10 \pm 0,02
	DPPH (μmol equivalente de trolox $\cdot g^{-1}$)	-	3,27 \pm 0,22	1,60 \pm 0,08	0,11 \pm 0,01

⁽¹⁾ Valores da composição centesimal expressos em % ($m \cdot v^{-1}$); ⁽²⁾ Expresso em teor de nitrogênio total % ($m \cdot v^{-1}$); ⁽³⁾ Expresso em teor de lactose % ($m \cdot v^{-1}$);

⁽⁴⁾ Expresso em teor de ácido láctico % ($m \cdot v^{-1}$); ⁽⁵⁾ Expresso em ácido cítrico % ($m \cdot m^{-1}$); AGE: Ácido gálico equivalente; CA: Capacidade antioxidante; ND: Não detectado.

5.2.1. Permeado

Como a água é um dos principais componentes que permeia a membrana, seu teor encontra-se elevado no permeado, totalizando 95,07% ($m \cdot v^{-1}$) de sua constituição. Seus constituintes sólidos são representados pelas cinzas, nitrogênio não proteico e lactose (principal carboidrato do leite) e juntos totalizam 4,93% ($m \cdot v^{-1}$)

A composição centesimal e as outras características físicas e químicas do permeado do presente trabalho se assemelham aos valores encontrados por outros autores como Sabioni, Fontes, Stringheta, Vidal, & Carvalho (2016) que caracterizaram o permeado da ultrafiltração do soro do leite e com esse elaboraram uma bebida funcional adicionada de corantes naturais extraídos de açaí e Fontes et al., (2013) que caracterizaram o permeado da ultrafiltração do leite e o utilizaram como base para elaboração de uma bebida isotônica.

O permeado possui sais inorgânicos simples de sódio, potássio, magnésio e fósforo que permeiam a membrana no processo de ultrafiltração e conferem à bebida formulada característica eletrolítica. Os valores de minerais encontrados no presente estudo foram iguais a 591,71 $mg \cdot L^{-1}$ de sódio, 1351,17 $mg \cdot L^{-1}$ de potássio, 276,41 $mg \cdot L^{-1}$ de fósforo, 360,75 de cálcio $mg \cdot L^{-1}$ e 62,25 $mg \cdot L^{-1}$ de magnésio.

Fontes et al. (2015), ao avaliar o permeado da ultrafiltração de leite desnatado, encontraram valores de sódio, potássio, cálcio e magnésio, respectivamente iguais a 374,4 $mg \cdot L^{-1}$; 763,5 $mg \cdot L^{-1}$; 250,7 $mg \cdot L^{-1}$; 52,04 $mg \cdot L^{-1}$. A diferença encontrada entre as concentrações dos minerais nos permeados pode ocorrer devido a diferenças da matéria-prima utilizada (leite ou soro de leite).

Ao avaliar a cor do permeado, o parâmetro L^* indica que o permeado apresentou-se claro e que o valor negativo de a^* e positivo de b^* , assim como o valor apresentado pelo índice de saturação (C^*) e ângulo de tonalidade (h^*) no sólido de cor, indicaram que a tonalidade do permeado encontra-se entre amarela e verde. A riboflavina, pigmento presente no soro do leite, permanece no permeado do soro do leite após a ultrafiltração é responsável pela coloração esverdeada natural do produto (DAMODARAN; PARJIN; FENNEMA, 2010).

De acordo com os resultados obtidos, o permeado da ultrafiltração do soro do leite torna-se promissora base para a elaboração de bebidas com características isotônicas com adição de ingredientes, como açúcar ou edulcorantes, corantes naturais para conferir cor ou alguma propriedade bioativa e uso de conservantes químicos para sua conservação.

5.2.2. Pequi *in natura*

O teor de umidade dos pequis *in natura* do presente trabalho (53,53% $m \cdot m^{-1}$) é próximo ao encontrado por Alves, Fernandes, Sousa, Naves, & Naves (2014) (54,78% $m \cdot m^{-1}$) em pequis adquiridos nas cidades mineiras de Campo Azul, Japonvar e Monte Alegre (safra de janeiro de 2010). O mesmo trabalho caracterizou pequis dos Estados de Goiás e Tocantins e esses apresentaram teor de umidade superior às encontradas nos pequis de Minas Gerais, respectivamente 56,21% $m \cdot m^{-1}$ e 72,17% $m \cdot m^{-1}$. Já no trabalho de Lima, Silva, Trindade, Torres, & Mancini-Filho (2007) que caracterizaram pequis provenientes do Piauí (safra de dezembro de 2004), o teor de umidade foi igual a 41,50% $m \cdot m^{-1}$.

Demais resultados referentes a caracterização da polpa de pequi estão apresentados na Tabela 2. A grande variação dos valores encontrados em caracterizações físicas e químicas dos frutos do pequi de diferentes regiões pode ocorrer devido a fatores climáticos das regiões de procedências dos frutos, como umidade relativa (ALVES *et al.*, 2014), índices pluviométricos, pH e fertilidade do solo e estágio de maturação no qual os frutos são colhidos Pinto (2012). Assim, ao comparar as características físicas e químicas do fruto, é importante que sejam consideradas as características do clima e solo de onde os pequis foram provenientes.

O pequi difere de outras frutas tropicais por apresentar um pH que o classifica como alimento de baixa acidez (pH acima de 4,5), propício ao desenvolvimento de microrganismos deteriorantes e patogênicos. Nesse trabalho foi encontrado valor de pH próximo à neutralidade, inferior ao apresentado por Arévalo-Pinedo *et al.* (2010) (7,36) e superior com relação ao estudo de Alves (2014) (5,34).

Em termos gerais, a polpa de pequi é rica em lipídios (34,14% $m \cdot m^{-1}$), compostos fenólicos (90,48 mg AGE $\cdot 100 g^{-1}$) e carotenoides totais (16,17 mg $\cdot 100 g^{-1}$).

Quando comparado o teor de compostos fenólicos da polpa de pequi com o trabalho de Zielinski *et al.* (2014), que caracterizou 19 polpas de frutas brasileiras, a polpa de pequi do presente trabalho (904,8 mg AGE $\cdot kg^{-1}$) apresentou maior teor de compostos fenólicos do que todas as polpas de frutas avaliadas, entre elas caju (739,73 mg AGE $\cdot kg^{-1}$), goiaba (625,87 mg AGE $\cdot kg^{-1}$), abacaxi (199,14 mg AGE $\cdot kg^{-1}$), graviola (163,50 mg AGE $\cdot kg^{-1}$), açaí (691,22 mg AGE $\cdot kg^{-1}$), tamarindo (373,15 mg AGE $\cdot kg^{-1}$), uva (808,05 mg AGE $\cdot kg^{-1}$) e outras.

Compostos fenólicos são substâncias bioativas que podem exercer funções relacionadas com a prevenção de doenças devido a sua ação antioxidante. São produzidos no metabolismo secundário das plantas com a finalidade de protegê-las de infecções por patógenos e defendê-las de situações de estresse como radiação ultravioleta (REGIS; SOUZA; SILVEIRA, 2013).

Estudos indicam que a alta capacidade antioxidante de compostos fenólicos pode modular diversas funções celulares, apresentando capacidade anti-inflamatória e neuroprotetoras, apresentando redução de incidência de doenças crônicas, coronarianas e (SILVA; POGAČNIK, 2017).

O teor de carotenoides totais da polpa de pequi do presente trabalho foi maior do que a polpa de pequis analisados por Lima al. (2007), ($7,25 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$) e maior do que jussara ($737,5 \text{ } \mu\text{g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$), araçá ($77,7 \text{ } \mu\text{g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$), e uvaia ($1306,6 \text{ } \mu\text{g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$), frutas nativas da Mata Atlântica caracterizadas por Silva et al. (2014).

Quando comparado o teor de carotenoides dos pequis *in natura* analisados no presente estudo ($16,17 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$) foi quase o dobro do teor de carotenoides dos pequis *in natura* caracterizados por Pinto (2012) ($8,68 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$). A diferença entre esses resultados pode estar relacionada, além das características de procedência dos frutos como discutido anteriormente, também ao processamento da matéria prima. Pois enquanto os pequis desse trabalho foram descascados e despulpados em despulpadeira, do outro foram adquiridos previamente descascados, ocorrendo degradação dos carotenoides durante o processamento e o transporte.

Assim como os compostos fenólicos, carotenoides também têm sido associados à redução do risco de doenças cardiovasculares, crônicas, câncer, asma e diabetes tipo 2 (BOHN et al., 2017). Alguns carotenoides possuem atividade pró-vitáminica A (α -caroteno, β -caroteno e β -criptoxantina) e outros como a luteína e zeaxantina, carotenoides de pigmentação amarela, são ativos contra a degeneração macular relacionada à idade e a catarata, mas sem atividade pró-vitáminica A, mas com capacidade antioxidante (DAMODARAN; PARJIN; FENNEMA, 2010).

Ao avaliar a cor da polpa de pequi *in natura*, a coordenada L^* indica que trata-se de uma polpa clara e que os valores positivos de a^* e b^* , assim como o valor apresentado pelo índice de saturação (C^*) e ângulo de tonalidade (h^*) no sólido de cor, indicaram que a polpa possui tonalidade entre o laranja e o amarelo (Figura 6).

Ao avaliar a cor de polpas de pequi provenientes de Goiás, Cordeiro et al. (2013) obtiveram valores próximos aos obtidos nesse trabalho. A cor natural dos pequis é conferida pelos carotenoides presentes.



Figura 6 - Polpa de pequi *in natura*.

A capacidade antioxidante do pequi pela técnica de ABTS apresentou concentração igual a $3,55 \mu\text{mol}$ equivalente de trolox $\cdot\text{g}^{-1}$, enquanto que pela técnica de DPPH $3,25 \mu\text{mol}$ equivalente de trolox $\cdot\text{g}^{-1}$. Contudo, há uma grande dificuldade para comparação entre dados experimentais referentes à capacidade antioxidante por diferentes métodos devido à diversidade de compostos antioxidantes presentes, polaridade e solubilidade. A forma de expressão de resultados também dificultam a comparação direta (LIMA, 2008).

A polpa de pequi no trabalho de Moraes et al. (2013) apresentou capacidade antioxidante pela maior captura de radicais livres que os demais frutos nativos do Cerrado Brasileiro avaliados (fruta-do-lobo ou lobeira, murici e quiabo-da-lapa).

5.2.3. Extrato de carotenoides de pequi

A obtenção dos carotenoides em pó de pequi considerado como encapsulado desse trabalho seguiu a metodologia descrita por Pinto (2012).

Ao avaliar a cor do extrato de carotenoides de pequi, a coordenada L^* indicou que trata-se de um extrato mais escuro em relação à polpa e que os valores positivos de a^* e b^* , assim como o valor apresentado pelo índice de saturação (C^*) e ângulo de tonalidade (h^*) no sólido de cor, indicaram que a tonalidade também encontra-se entre o laranja e o amarelo, apresentando coloração alaranjada escura (Figura 7).

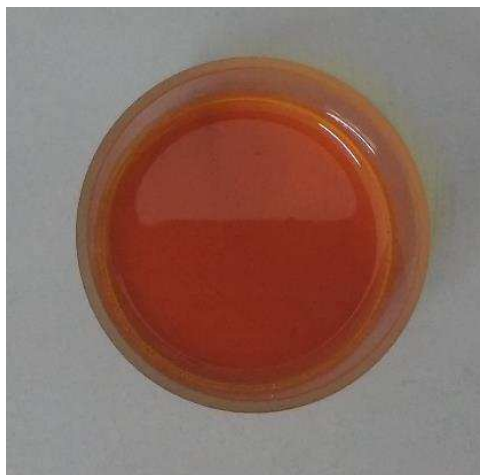


Figura 7: Extrato de carotenoides de pequi.

Para a obtenção dos extratos de carotenoides de pequi a partir da polpa de pequi desidratada foi utilizado acetona como solvente extrator. A concentração de carotenoides no extrato de carotenoides de pequi do presente estudo foi 2,3 vezes maior que o encontrado por Pinto (2012).

A diferença entre esses valores pode ser devido, além da inicial diferença de teor de carotenoides da polpa de pequi *in natura*, também pela diferença entre as técnicas de desidratação da polpa de pequi antes da extração de seus carotenoides. Enquanto nesse trabalho a desidratação da polpa de pequi foi realizada por liofilização, no outro procedeu-se a secagem da polpa em secador de bandejas a 60 °C por 6 h.

O aumento do teor de carotenoides do extrato de carotenoides de pequi com relação à polpa de pequi *in natura* é devido à extração dos carotenoides com acetona e subsequente concentração em rotaevaporador, já a redução do teor de polifenóis quando comparados os teores da polpa *in natura* com o extrato de carotenoides está relacionada com a baixa eficiência da acetona para extração desses compostos hidrossolúveis.

5.2.4. Carotenoides em pó de pequi

Comparando as características físicas e químicas dos carotenoides em pó de pequi desse trabalho, com os trabalhos realizados por Pinto (2012) pela secagem em camada de espuma, e do trabalho de Costa, Hijo, Silva, Borges, & Marques (2016) por secagem por atomização, o teor de umidade foi similar entre os três trabalhos, aproximadamente 3,71% m·m⁻¹. O baixo teor de umidade é típico de produtos desidratados. Essa característica limita o crescimento microbiano e contribui para a estabilidade do produto.

O valor de atividade de água (a 25 °C) encontrado nesse trabalho foi superior ao encontrado por Pinto (2012) (0,3890), analisado na mesma temperatura. Essa característica está relacionada, juntamente com outros fatores como exposição à luz e oxigênio e temperatura à estabilidade ao tempo de armazenamento (vida útil) de alimentos. Em geral, valores inferiores a 0,6 inibem o crescimento de microrganismos e diversas reações indesejáveis como oxidação e ação enzimática (DAMODARAN; PARJIN; FENNEMA, 2010).

O valor da atividade de água do extrato de carotenoides e dos carotenoides em pó de pequi está próximo devido ao elevado teor de lipídios das duas amostras, nesse caso, a água apresenta pouca interação entre os componentes com conseqüente redução de reações.

Quando comparados os resultados do teor de carotenoides em pó obtidos pela secagem em camada de espuma, o resultado encontrado nesse trabalho (1,33 mg·100 g⁻¹) foi superior (0,961 mg·100 g⁻¹) ao encontrado por Pinto (2012).

Ao comparar a cor dos carotenoides em pó obtidos por secagem em camada de espuma e atomização, a coordenada L* indicou que tratam-se de pós claros, sendo os obtidos desse trabalho mais escuros que os dos trabalhos de Costa et al. (2016) e Pinto (2012). Os valores positivos de a* e b*, encontrados para os carotenoides em pó do presente trabalho e do de Costa et al. (2016) informam que esses encontram-se entre a tonalidade laranja e amarela, enquanto os valores negativo de a* e positivo de b* no trabalho de Pinto (2012) indicam que esses se encontram-se entre a tonalidade amarela e o verde.



Figura 8: Carotenoides em pó de pequi

Além das características edafoclimáticas das regiões de procedência dos pequis, o tipo de despulpamento, o tempo entre o despulpamento e as análises de caracterização e os métodos

de secagem até obtenção dos carotenoides em pó de pequi podem alterar o teor final de carotenoides.

O aumento do teor de fenólicos totais e a redução do teor de carotenoides dos carotenoides em pó, quando comparados com o extrato de carotenoides, está relacionada com a solubilização do material, que foi realizada em água, pois os polifenóis são mais solúveis em água do que os carotenoides.

A caracterização das matérias-primas é de extrema importância, uma vez que suas características indicam a possibilidade de sua utilização para elaboração de novo produto. Os carotenoides em pó de pequi, corantes naturais, possuem compostos bioativos e o permeado possui, naturalmente em sua composição, minerais essenciais na alimentação humana e osmolaridade inferior à determinada pela resolução que designa a composição de produtos para atletas (BRASIL, 2010). A utilização dessas matérias-primas e ingredientes é promissora na elaboração de bebidas isotônicas adicionadas de corantes naturais.

5.2. Caracterização da bebida isotônica

Na Tabela 7 estão representados os resultados das análises de caracterização da bebida isotônica elaborada com permeado da ultrafiltração do soro do leite adicionado de carotenoides em pó de pequi.

O valor da osmolaridade da bebida elaborada foi igual a $314,89 \text{ mOmol}\cdot\text{L}^{-1}$. A bebida elaborada pode ser caracterizada como isotônica pois sua osmolaridade encontra-se dentro da faixa de valor osmótico de bebidas isotônicas, sugerida por Petrus, Assis, & Faria (2005) que varia de $290 \text{ mOsmol}\cdot\text{L}^{-1}$ a $330 \text{ mOsmol}\cdot\text{L}^{-1}$.

O teor de carboidratos totais obtido ($7,88\% \text{ m}\cdot\text{v}^{-1}$) encontra-se dentro da faixa de valores que define bebidas isotônicas (6% a 8%) e também está adequado segundo a Resolução RDC 18 (BRASIL, 2010), que é de até 8% na bebida pronta para consumo.

O teor de sólidos solúveis totais da bebida isotônica analisada no presente trabalho apresentou valor igual a $7,9^\circ\text{Brix}$, valor superior ao encontrado por Valente (2015) ($5,83^\circ\text{Brix}$), que elaborou bebida isotônica adicionada de extrato de antocianina de jabuticaba. Pela secagem em camada de espuma, os carotenoides, corantes naturais do presente trabalho, tiveram adição de materiais de emulsificação e de parede que aumentaram seu teor de sólidos solúveis. Sendo assim, esse corante possui maior limitação quanto a quantidade adicionada quanto ao controle da osmolaridade da bebida elaborada.

Bebidas isotônicas têm como característica intrínseca o baixo pH e, para acidificação do permeado para elaboração da bebida foi adicionado ácido cítrico. O valor obtido do pH da bebida isotônica pronta para consumo foi igual a 3,66 e para acidez total titulável 0,51% m·v⁻¹ (expresso em ácido cítrico). Fontes et al. (2015), ao estudarem bebida eletrolítica à base de permeado de leite, encontraram um valor de pH de 3,42 e uma acidez de 0,66% de ácido cítrico. Esses resultados demonstram pequenas variações entre as mesmas características para o mesmo tipo de bebida.

Tabela 7: Valores médios (\pm desvio-padrão) das características físicas e químicas da bebida isotônica elaborada com permeado da ultrafiltração do soro de leite adicionado de carotenoides em pó de pequi.

	Características	Médias \pm Desvio-Padrão*
Composição centesimal	Água, % (m·v ⁻¹)	91,63 \pm 0,28
	Nitrogênio total, % (m·v ⁻¹)	0,02 \pm 0,00
	Cinzas, % (m·v ⁻¹)	0,47 \pm 0,02
	Lactose, % (m·v ⁻¹)	4,67 \pm 0,03
	Carboidratos totais, % (m·v ⁻¹)	7,88 \pm 0,20
	Osmolalidade (mOmol·L ⁻¹)	314,89 \pm 2,57
	pH	3,66 \pm 0,04
	Acidez total titulável, % (m·v ⁻¹) ⁽¹⁾	0,51 \pm 0,06
	Sólidos solúveis totais (°Brix)	7,9 \pm 0,0
	Carotenoides totais (mg·100 mL ⁻¹)	0,19 \pm 0,02
Mineral (mg·L⁻¹)	Sódio	662 \pm 19,14
	Potássio	1363,73 \pm 33,23
	Fósforo	295,27 \pm 8,26
	Cálcio	294,40 \pm 65,87
	Magnésio	62,25 \pm 1,06
Coordenada de cor	Coordenada L*	59,16 \pm 1,19
	Coordenada a*	-3,78 \pm 0,10
	Coordenada b*	15,77 \pm 0,41
	Índice de saturação (C*)	16,22 \pm 0,37
	Ângulo de tonalidade (h*)	103,48 \pm 0,69
Capacidade antioxidante	ABTS ⁽²⁾	10,79 \pm 1,50
	DPPH ⁽²⁾	73,38 \pm 3,49

*Valores representam a média das três repetições das análises em duplicata. ⁽¹⁾ Expresso em ácido cítrico; ⁽²⁾ Expresso em μ mol equivalente de trolox·100 mL⁻¹.

O teor de sódio da bebida elaborada foi igual a $662,70 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ e o teor de potássio, $1351,71 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

Outros isotônicos naturais como a água-de-coco possuem elevada concentração de alguns minerais, entre eles, sódio e potássio, respectivamente $466,67 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ e $3000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (CESAR et al., 2015). Embora possua elevada concentração desses minerais, trata-se de um alimento consumido frequentemente para reidratação, muitas vezes após a prática do exercício físico, além de ser facilmente consumida (VALENTE, 2015). Segundo MARTINS; CARBOLÁN; PEREZ (2011), quando comparadas hidratações de atletas realizadas com água e com bebidas isotônicas com concentrações de potássio acima do valor recomendado pela Resolução, não foram observadas alterações no potássio plasmático após ingestão das bebidas.

Com relação à cor da bebida, o resultado obtido de L^* indica que a bebida apresentou-se clara. Valor negativos de a^* e positivo de b^* , assim como os valores apresentados pelo ângulo de tonalidade (h^*) e índice de saturação (C^*), no sólido de cor CIELAB, indicam que a tonalidade da bebida encontra-se entre a cor amarela e verde.

A tonalidade da bebida desenvolvida é devida aos carotenoides em pó de pequi e à riboflavina, pigmento naturalmente presente no soro de leite que permanece no permeado.

Para avaliar o índice de separação de fases dos carotenoides em pó de pequi nas bebidas isotônicas (Figura 9) foram medidas a altura inicial das suspensões nas provetas (A_0) e a altura da fase aquosa (A_1) no decorrer do tempo nas mesmas temperaturas em que foram realizadas o teste de estabilidade das bebidas isotônicas: ambiente ($25 \text{ }^\circ\text{C}$) (Figura 9 A) e de refrigeração ($4 \text{ }^\circ\text{C}$) (Figura 9 B). Após alguns minutos houve formação de suspensão e que após aproximadamente 30 min houve estabilização da separação de fase.

Os carotenoides em pó de pequi em bebidas isotônicas armazenadas a $25 \text{ }^\circ\text{C}$ e $4 \text{ }^\circ\text{C}$ apresentaram valores de índice de separação respectivamente iguais a 93% e 92% indicando que houve rápida e grande separação de fases e que a bebida antes de ser consumida deve ser agitada.

Entre os ingredientes adicionados para realização da secagem em camada de espuma, o Emustab[®] é um estabilizante à base de mono e diglicerídeos destilados. Por ser um agente espumante, é muito utilizado na produção de espumas. Possui grande capacidade de expansão e estabilidade.

Lecitina de soja é um importante emulsificante natural composta por uma mistura de diversos fosfolípidios dissolvidos em óleos. Os vários fosfatídios presentes na lecitina

apresentam distintos valores de BHL que resultam em propriedades típicas de emulsificação. A lecitina ou fosfatidilcolina estabiliza emulsões do tipo óleo/água (O/A), enquanto a fosfatidilinositol e a fosfatidiletanolamina estabilizam emulsões do tipo água/óleo (A/O). A presença desses fosfolipídios na lecitina resulta em fracas propriedades emulsificantes, tanto em emulsões O/A quando em A/O. Além disso, em altas concentrações de sais de cálcio e magnésio há uma diminuição do poder emulsificante (ARAÚJO, 2011).

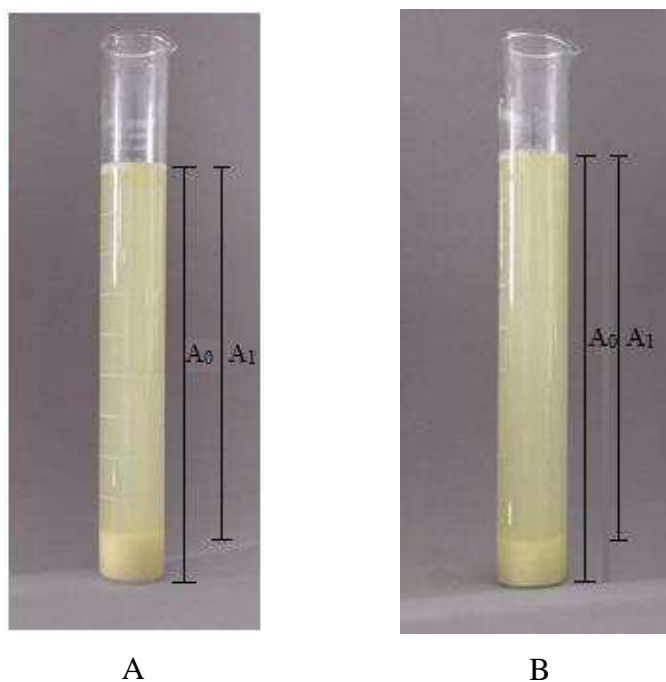


Figura 9: Teste índice de separação de fases das bebidas isotônicas após 30 min. A: Temperatura ambiente (25 °C); B: Temperatura de refrigeração (4 °C).

Por se tratar de uma bebida com alta concentração de minerais, para a obtenção de uma emulsão estável, devem ser realizados estudos quanto aos emulsificantes adicionados no emulsificação do extrato de carotenoides de pequi para a secagem em camada de espuma.

As análises realizadas demonstraram que a bebida isotônica formulada com o permeado da ultrafiltração do soro de leite adicionado de carotenoides em pó de pequi possui características relevantes que outras bebidas isotônicas comerciais não possuem, como pigmento natural e propriedades bioativas.

5.3. Estudo da estabilidade da bebida isotônica

O desenvolvimento de um novo produto requer o estudo de sua estabilidade durante seu armazenamento, pois quando os alimentos são expostos a diferentes condições ambientais, as

quais podem desencadear uma série de reações, e conseqüentes transformações químicas, físicas e microbiológicas, podem levar a sua degradação e conseqüente rejeição pelos consumidores.

Assim, para verificar possíveis alterações químicas, físicas e microbiológicas em amostras das bebidas isotônicas elaboradas com permeado da ultrafiltração do soro de leite adicionado de carotenoides em pó de pequi foi realizado um estudo de estabilidade em diferentes condições e durante determinados tempos de armazenamento.

Não foram observados efeitos da exposição ou não da luz e do tempo de estocagem nas amostras de bebidas armazenadas a 4 °C e 25 °C durante seus respectivos períodos de estocagem para as medidas de osmolalidade, pH, sólidos solúveis totais e acidez total titulável. Os valores se mantiveram constantes e não sofreram alterações significativas nas condições testadas ($p > 0,05$).

5.3.4. Cálculo da velocidade de degradação (k) e determinação do tempo de meia vida ($t_{1/2}$)

O estudo cinético foi empregado para estimar os coeficientes velocidade de alteração ou degradação (k) e o tempo de meia vida ($t_{1/2}$) para as coordenadas de cor (C^* e h^*) e teor de carotenoides.

O modelo cinético de primeira ordem apresentou melhor ajuste aos dados experimentais tanto para as coordenadas de cor (C^* e h^*) quanto para o teor de carotenoides das bebidas isotônicas armazenadas sob condições de armazenamento sob presença e ausência de luz a 4 °C e 25 °C para representar a degradação com o tempo. O intervalo de tempo para a estimativa de k foi distinto entre as variáveis.

Pelos resultados obtidos, deduz-se, em geral, que os valores das constantes de velocidade são maiores sob presença de luz e aumentam à medida que a temperatura aumenta.

5.3.1. Análise objetiva da cor

A visão é o primeiro sentido empregado na seleção e aceitação de qualquer produto e a cor é um atributo importante no julgamento da qualidade intrínseca de um alimento, podendo ser usada como índice para avaliar transformações que ocorrem em períodos de armazenamento de produto.

Na Tabela 8 encontram-se os valores médios (\pm desvio-padrão) das coordenadas de cor das amostras de bebidas isotônicas armazenadas em diferentes condições de luz e temperatura após o estudo de estabilidade.

Tabela 8: Média das coordenadas de cor (\pm desvio-padrão) das amostras de bebidas isotônicas armazenadas em diferentes condições de luz e temperatura após o estudo de estabilidade.

Condição	Tempo (dias)	L*	C*	h* (graus)
Inicial	0	59,16 \pm 1,19	16,22 \pm 0,37	103,48 \pm 0,69
Luz/25 °C	30	60,46 \pm 0,78	2,49 \pm 0,06	220,69 \pm 2,71
Luz/4 °C		63,97 \pm 1,43	2,73 \pm 0,20	228,45 \pm 4,24
Ausência de luz /25 °C	40	62,35 \pm 1,25	8,59 \pm 1,43	119,53 \pm 3,41
Ausência de luz/4 °C	60	64,45 \pm 1,53	13,28 \pm 0,87	108,81 \pm 1,52

Médias (n=3)

De acordo com os dados da Tabela 8, pode-se afirmar que houve efeito da exposição ou não à luz das amostras de bebidas armazenadas a 4 °C e 25 °C sobre as coordenadas de cor durante o tempo de armazenamento. Essas alterações podem ser visualizadas na Figura 10.

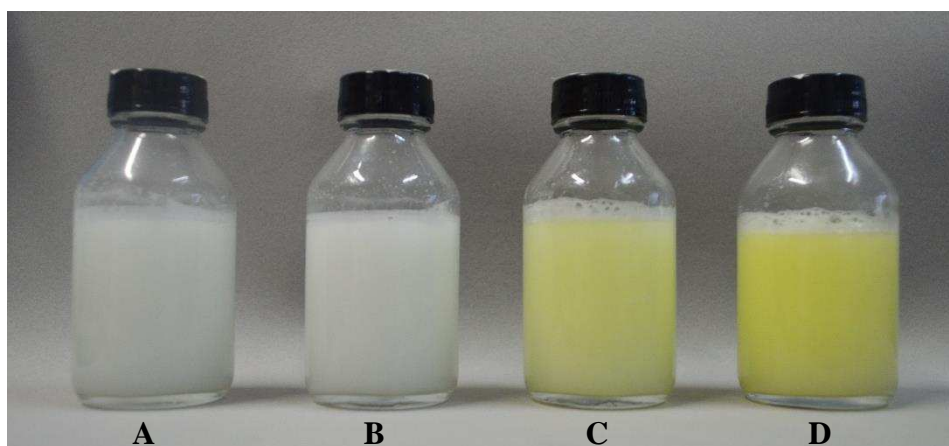


Figura 10: Bebidas isotônicas armazenadas em diferentes condições de luz e temperatura. Presença de luz a 25 °C após 30 dias (A); presença de luz a 4 °C após 30 dias (B); ausência de luz a 25 °C após 40 dias (C) e ausência de luz a 4 °C após 60 dias (D).

Durante o estudo de estabilidade, as bebidas submetidas às condições de presença de luz apresentaram valores negativos de a^* e b^* , e, de acordo com o ângulo de tonalidade (h^*) há indicação de que as amostras perderam a tonalidade amarela, tendendo para tonalidade verde.

Já as amostras de bebidas armazenadas em ausência de luz, mantiveram a tonalidade semelhante às bebidas no dia da elaboração, amarela, durante todo o estudo de estabilidade. As amostras armazenadas na presença de luz sofreram maiores alterações de cor do que as amostras armazenadas na ausência de luz.

Os valores de luminosidade (L^*) (Figura 11) indicaram que todas as amostras apresentavam inicialmente cor clara e que, ao final estudo de estabilidade, apresentaram ligeiro aumento do valor dessa coordenada.

Quando comparadas as amostras armazenadas sob presença de luz, ao final do estudo de estabilidade, as amostras armazenadas a 25 °C apresentavam-se mais escuras do que as armazenadas sob refrigeração (4 °C) devido a degradação mais rápida dos carotenoides, com conseqüente perda da tonalidade amarela.

As amostras armazenadas sob ausência de luz apresentaram aumento da luminosidade mais lentamente, pois a perda de carotenoides e da tonalidade amarela foi mais lenta.

A presença dos demais ingredientes como a maltodextrina e os emulsificantes também podem ter interferido na luminosidade das amostras.

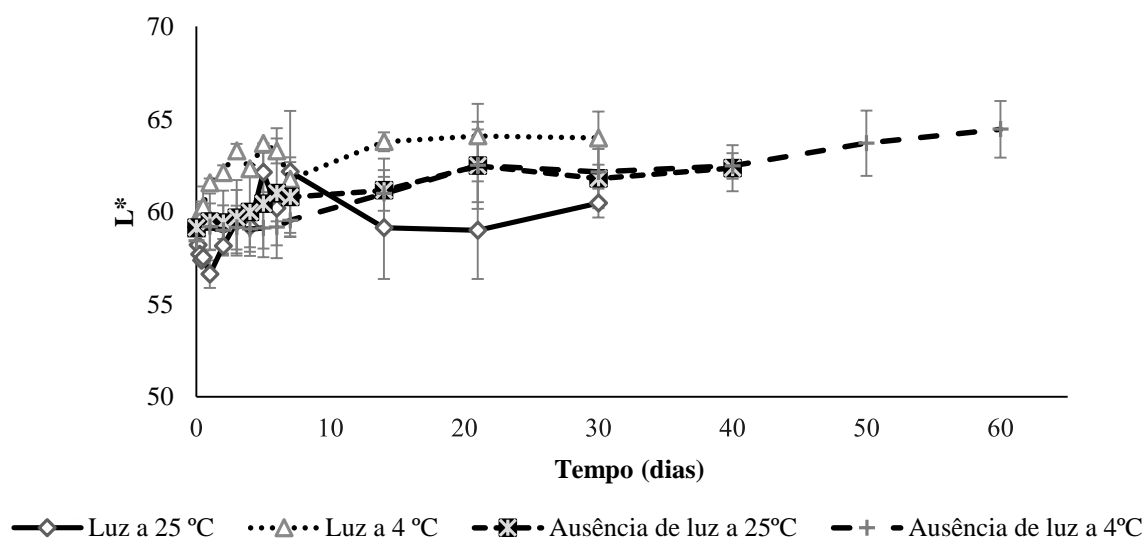


Figura 11: Variação da coordenada de cor L^* das bebidas isotônicas elaboradas com permeado da ultrafiltração do soro de leite adicionado de carotenoides em pó de pequi armazenadas durante 30 dias, 40 dias e 60 dias.

Com relação aos valores de saturação (C^*), houve diminuição para todas as condições avaliadas ao longo do período de armazenamento.

As amostras de bebidas expostas à luz apresentaram cor menos intensa (saturação menor) do que as amostras armazenadas sob ausência de luz.

Quando comparadas as condições de exposição à luz, as amostras armazenadas em maior temperatura, temperatura ambiente (25 °C), foram mais afetadas, apresentando cor menos intensa, indicando que essa coordenada é influenciada tanto pela luz quanto pela temperatura. As amostras de bebidas armazenadas sob refrigeração a 4 °C, na ausência de luz, tiveram menor alteração dessa variável ao longo do tempo de armazenamento (Figura 12).

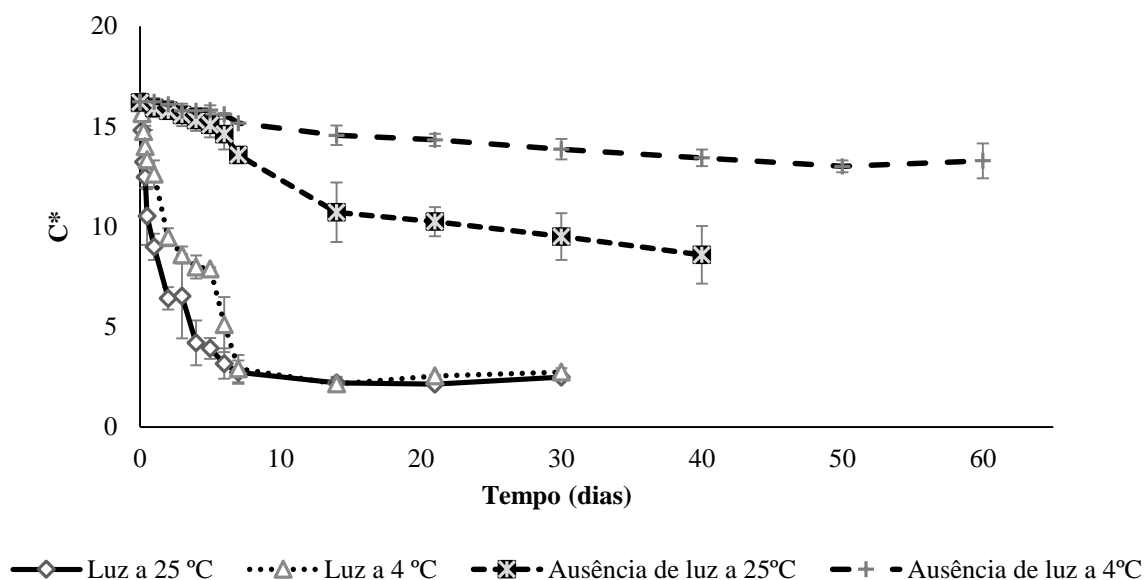


Figura 12: Variação da coordenada de cor C* das bebidas isotônicas armazenadas durante 30 dias, 40 dias e 60 dias.

A estimativa dos coeficientes cinéticos para alterar a coordenada de cor C* de bebidas isotônicas, em diferentes condições de armazenamento está presente na Tabela 9.

Tabela 9: Estimativa dos coeficientes cinéticos para alterar a coordenada de cor C* de bebidas isotônicas, em diferentes condições de armazenamento.

Variável	Condição	Valor inicial	Intervalo de tempo (dias)	k (dias ⁻¹)	$t_{1/2}$ (dias)	R^2
C*	Luz/25 °C	16,2	0 a 7	0,245	2,83	0,9535
	Luz/4 °C	16,17	0 a 7	0,2116	3,28	0,9630
	Ausência de luz/25 °C	16,19	0 a 30	0,0202	34,31	0,9305
	Ausência de luz/4 °C	16,23	0 a 30	0,0055	126,03	0,9409

k : velocidade de alteração ou de degradação (dias⁻¹) e $t_{1/2}$: Tempo requerido para redução de 50% do valor inicial (dias).

Amostras de bebidas isotônicas armazenadas sob presença de luz a 25 °C e a 4 °C tiveram alteração no valor da coordenada de cor C^* até 7 dias a uma taxa respectivamente igual a $0,245 \text{ dias}^{-1}$ e $0,2116 \text{ dias}^{-1}$, após 7 dias, o valor C^* praticamente não se alterou até 30 dias de armazenamento.

Com relação as amostras armazenadas sob ausência de luz, as armazenadas a 25 °C tiveram alteração no valor C^* até 30 dias a uma taxa igual a $0,0202 \text{ dias}^{-1}$, já as amostras armazenadas a 4 °C apresentaram menores valores de taxa de degradação ($0,0055$), sendo necessários aproximadamente 126 dias para reduzir em 50% o valor de C^* , enquanto que para as bebidas armazenadas a temperatura ambiente (25 °C), a mesma redução ocorreria em aproximadamente 34 dias.

A tonalidade, representada pela coordenada de cor h^* , traduz a cor propriamente dita. O valor h^* também foi mais influenciado pela presença de luz do que pela temperatura.

Houve aumento nos valores de tonalidade (h^*) para as bebidas, quando estocadas em presença de luz, nas duas temperaturas de armazenamento, enquanto que para as amostras armazenadas sob ausência de luz a variação do valor de h^* foi menor.

As amostras armazenadas sob presença de luz revelaram tonalidade mais próxima do verde devido a presença de riboflavina, pigmento natural presente no permeado. Os demais ingredientes adicionados, como maltodextrina e emulsificantes também influenciaram na coloração final das amostras armazenadas sob presença de luz.

Já as bebidas isotônicas armazenadas na ausência de luz permaneceram com tonalidade próxima a do dia de sua elaboração.

A perda de tonalidade amarela está diretamente relacionada com a perda de carotenoides, indicando que a secagem não foi eficiente para proteger esses corantes naturais.

A estimativa dos coeficientes cinéticos para alterar a coordenada de cor h^* de bebidas isotônicas, em diferentes condições de armazenamento está presente na Tabela 10.

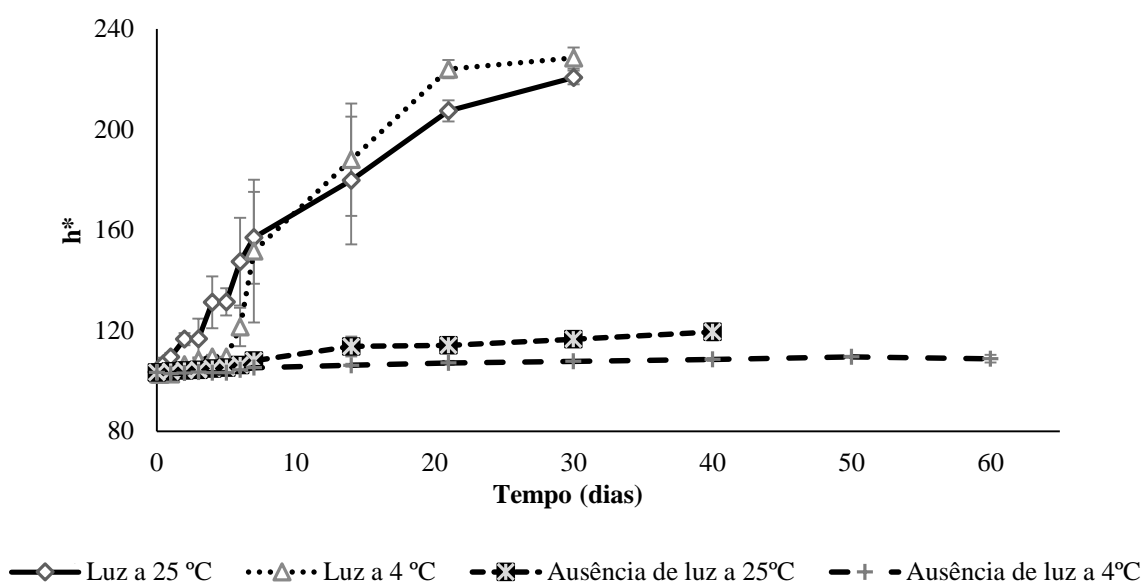


Figura 13: Variação da coordenada de cor h^* das bebidas isotônicas armazenadas durante 30 dias, 40 dias e 60 dias.

Tabela 10: Estimativa dos coeficientes cinéticos para alterar a coordenada de cor h^* de bebidas isotônicas, em diferentes condições de armazenamento.

Variável	Condição	Valor inicial	Intervalo de tempo (dias)	k (dias ⁻¹)	$t_{1/2}$ (dias)	R^2
h^*	Luz/25 °C	103,49	0 a 7	0,0571	12,14	0,9784
	Luz/4 °C	103,44	0 a 21	0,0403	17,20	0,9570
	Ausência de luz/25 °C	103,43	0 a 30	0,0042	165,04	0,9753
	Ausência de luz/4 °C	103,33	0 a 30	0,0017	407,73	0,9502

k : velocidade de alteração ou de degradação (dias⁻¹) e $t_{1/2}$: Tempo requerido para redução de 50% do valor inicial (dias).

As amostras de bebidas isotônicas armazenadas na presença de luz apresentaram valor da taxa de degradação das amostras armazenadas a 25 °C igual a 0,0571 dias⁻¹ e 4 °C igual a 0,403 dias⁻¹.

Os valores de taxa de degradação da coordenada h^* para amostras de bebidas isotônicas armazenadas sob ausência de luz foram maiores para as armazenadas a 25 °C (0,042 dias⁻¹), sendo necessários cerca de 165 dias para que ocorresse redução de 50% no valor da coordenada, enquanto que para as armazenadas a 4 °C (0,0014) cerca de 407 dias, mais de um ano.

Em relação à variável ΔE (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 (2009) diferenças da ordem de 3 podem ser descritas como “muito pronunciadas”, já limites inferiores a 1 (SCHUBRING, 2009) e 2 (MESNIER et al., 2014) não são perceptíveis pelos olhos humanos.

Os valores encontrados para ΔE (Figura 14) evidenciaram que a bebida isotônica armazenada a 25 °C na presença de luz, com 5 dias de armazenamento, obteve uma avaliação da diferença global de cor > 12 , ou seja, facilmente perceptível. Já as bebidas armazenadas sob ausência de luz, com ou sem refrigeração alcançaram valores menores do que 10, sendo que as amostras armazenadas a 4 °C na ausência de luz, ao final dos 60 dias de experimento, apresentavam valor de ΔE igual a 9.

Quanto maior o valor de ΔE , maior a diferença total de cor do produto no decorrer do tempo em relação ao produto no tempo zero, no dia em que foi produzido.

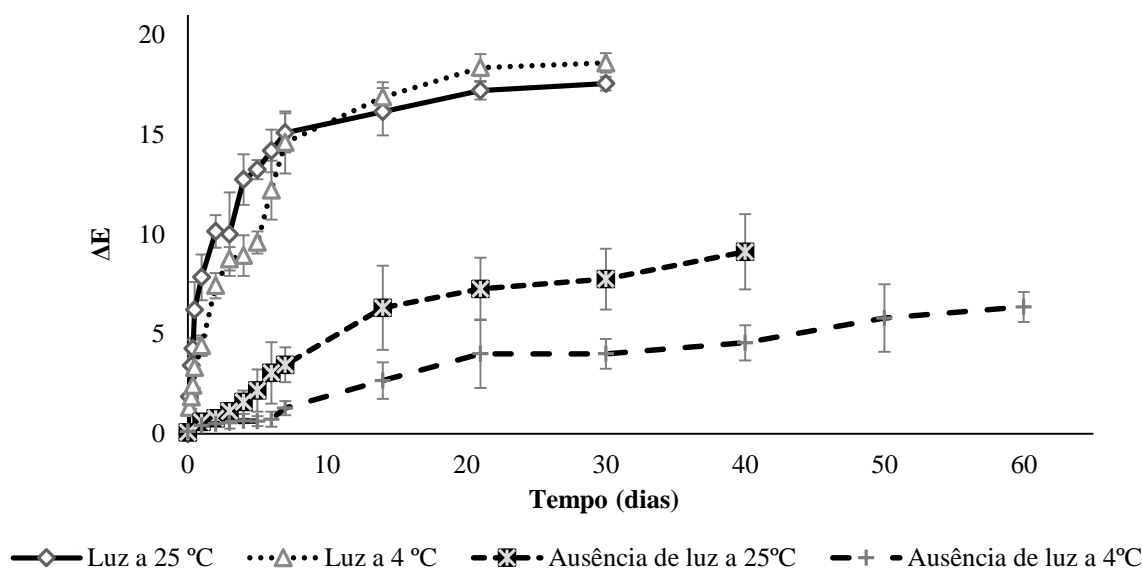


Figura 14: Variação da impressão global da cor ΔE das bebidas isotônicas armazenadas durante 30 dias, 40 dias e 60 dias.

Os resultados indicam que a bebida isotônica formulada nesse teve diminuição da intensidade na coloração em razão da degradação de carotenoides. A degradação de carotenoides é facilmente observada, pois leva a perda de cor. A estabilidade dos carotenoides durante o armazenamento é afetada devido a reações de oxidação e isomerização. Essas reações

resultam na perda de atributos sensoriais relacionados a qualidade do produto e a intenção de compra como cor (CASTRO-LÓPEZ et al., 2016).

5.3.2. Carotenoides

O teor de carotenoides em alimentos é modificada durante o armazenamento pós colheita de vegetais, bem como durante o processamento e armazenamento de alimentos.

O sistema de duplas ligações conjugadas que confere cor aos carotenoides também os tornam muito susceptíveis a fatores como luz, temperatura, luz e ácidos que causam *trans*-isomerização (que é a forma mais estável na natureza) para a forma *cis*, levando a perda de cor e atividade provitamínica.

Carotenóides são também susceptíveis à oxidação enzimática ou não enzimática, que depende da estrutura do carotenóide, da disponibilidade de oxigênio, enzimas, metais, pró-oxidantes e antioxidantes, exposição à luz e alta temperatura (MEZZOMO; FERREIRA, 2016).

A presença de oxigênio também é um fator que leva a perda de carotenoides, na qual um radical livre ocasiona reação em cadeia na presença de oxigênio, luz, metais e peróxidos (CASTRO-LÓPEZ et al., 2016).

Na Figura 15 está representada a variação do teor de carotenoides das bebidas isotônicas armazenadas sob diferentes condições de luz e temperatura por um período de 30 dias, 40 dias e 60 dias.

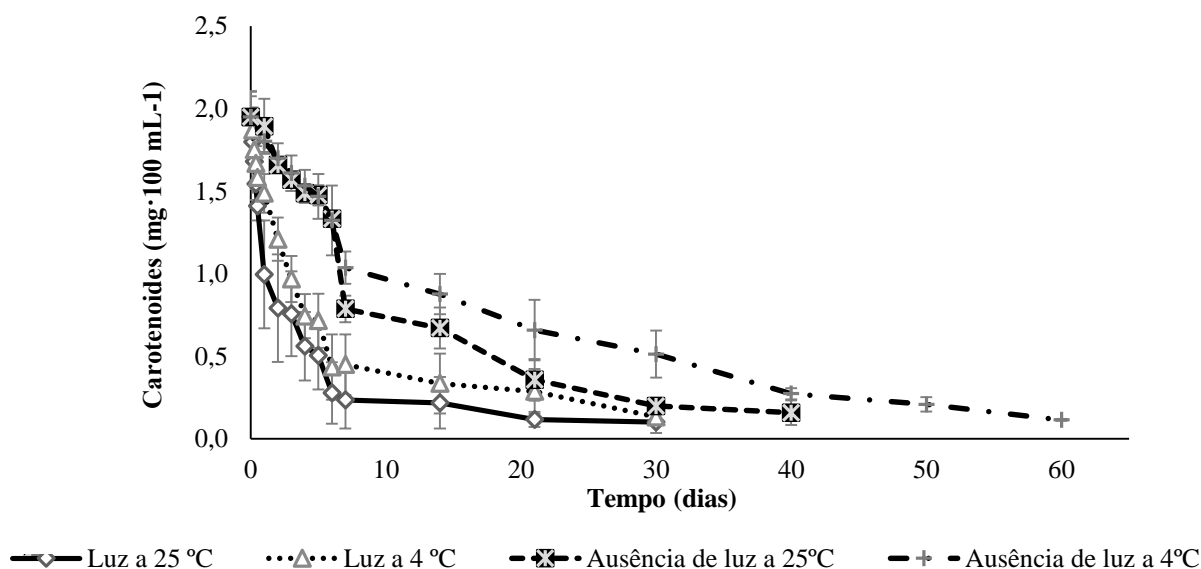


Figura 15: Variação do teor de carotenoides das bebidas isotônicas armazenadas durante 30 dias, 40 dias e 60 dias.

De acordo com a Figura 15, as amostras expostas à condição de presença de luz, nas duas temperaturas de armazenamento apresentaram maiores reduções dos teores de carotenoides totais em relação ao tempo inicial. Já as bebidas isotônicas armazenadas na condição de ausência de luz, quando armazenadas a temperatura de refrigeração (4 °C), apresentaram menor alteração no teor de carotenoides também quando comparadas às armazenadas a temperatura ambiente (25 °C).

De acordo com Boon et al. (2010) a exposição à luz degrada os carotenoides pela produção de cátions radicais levando a um rápido branqueamento, pois as moléculas são excitadas e quando voltam ao estado fundamental podem ser atacadas por subprodutos radicais criados.

A estimativa dos coeficientes cinéticos para alterar a o teor de carotenoides das bebidas isotônicas, em diferentes condições de armazenamento está presente na Tabela 11.

Tabela 11: Estimativa dos coeficientes cinéticos para alterar o teor de carotenoides de bebidas isotônicas, em diferentes condições de armazenamento.

Variável	Condição	Valor inicial	Intervalo de tempo (dias)	k (dias ⁻¹)	$t_{1/2}$ (dias)	R^2
Carotenoides	Luz/25 °C	1,95	0 a 7	0,283	2,45	0,9667
	Luz/4 °C	1,95	0 a 7	0,215	3,22	0,9821
	Ausência de luz/25 °C	1,95	0 a 30	0,0782	8,86	0,9711
	Ausência de luz/4 °C	1,95	0 a 30	0,046	15,13	0,9837

k : velocidade de alteração ou de degradação (dias⁻¹) e $t_{1/2}$: Tempo requerido para redução de 50% do valor inicial (dias).

Com relação a temperatura, o teor de carotenoides diminui mais lentamente quando o alimento é armazenado em temperaturas de refrigeração (4 °C), mesmo quando exposto à condição de presença de luz. Quando armazenados em temperatura ambiente (25 °C) houve aumento da oxidação. Carotenoides são, em sua grande maioria, termolábeis e a oxidação é uma das maiores causas de perda durante o armazenamento, essa é acelerada pela presença de luz e temperatura.

A isomerização dos carotenoides pela ação da luz e temperatura degrada os carotenoides e torna sua cor menos intensa e essa aumenta com o tempo e as condições de armazenamento, principalmente sob exposição a luz (MAIANI et al., 2009).

A presença de luz degradou mais rapidamente os carotenoides e, quanto maior a temperatura, maior a degradação desse corante natural, mesmo sob condição de ausência de luz.

As amostras de bebidas isotônicas armazenadas na presença de luz apresentaram valor da taxa de degradação das amostras armazenadas a 25 °C igual a 0,0283 dias⁻¹ e 4 °C igual a 0,215 dias⁻¹, sendo necessários aproximadamente 2 e 3 dias para degradação de 50% do teor de carotenoides nas respectivas condições.

Já, sob ausência de luz, as amostras de bebidas isotônicas armazenadas a 25 °C apresentaram velocidade de degradação igual a 0,0782 dias⁻¹, sendo necessários cerca de 8 dias para que ocorresse redução de 50% no valor da coordenada, enquanto que para as armazenadas a 4 °C, que apresentaram velocidade de degradação igual a 0,0458 dias⁻¹, em aproximadamente 15 dias, teriam seu teor de carotenoides reduzido em 50%.

5.3.3. Capacidade antioxidante

Outros critérios que podem ser utilizados para determinar a vida útil de um alimento são as características nutricionais e funcionais.

No presente trabalho, a capacidade antioxidante das bebidas isotônicas foi avaliada durante o estudo de estabilidade pelos ensaios dos cátions radicais ABTS e DPPH.

Esses ensaios estão entre os mais relatados da literatura. Ambos os radicais podem ser estabilizados pela extinção do radical pela transferência de átomos de hidrogênio ou pela redução direta pela transferência de elétrons (DE OLIVEIRA et al., 2017)

Na Tabela 12 estão os dados referentes à variação da capacidade antioxidante das bebidas isotônicas avaliadas pelos radicais ABTS e DPPH durante o estudo de estabilidade.

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 12, pode-se notar maior e mais rápida redução da capacidade antioxidante das amostras de bebidas isotônica armazenadas na condição de presença de luz para o ensaio DPPH.

A capacidade antioxidante pode estar associada com o sistema de duplas ligações conjugadas dos carotenoides que reagem com o oxigênio singlete e com a presença de compostos fenólicos.

Tabela 12: Valores médios (\pm desvio-padrão) da capacidade antioxidante pelos radicais ABTS e DPPH em amostras de bebidas isotônicas em diferentes condições de luz e temperatura e tempo de armazenamento.

		Condição	Tempo (dias)	$\mu\text{mol de Trolox}\cdot 100 \text{ mL}^{-1*}$
Capacidade antioxidante	ABTS	Inicial	0	$10,76 \pm 1,50$
		Luz 25 °C	1	$10,78 \pm 0,35$
			14	$12,78 \pm 1,20$
		Luz 4°C	3	$11,69 \pm 1,47$
			21	$12,37 \pm 1,00$
		Ausência de luz 25°C	40	$15,00 \pm 0,24$
		Ausência de luz 4 °C	30	$12,74 \pm 1,58$
	60		$16,23 \pm 0,11$	
	DPPH	Inicial	0	$73,38 \pm 3,49$
		Luz 25 °C	1	$29,29 \pm 0,89$
			14	$11,88 \pm 0,76$
		Luz 4°C	3	$34,13 \pm 0,61$
			21	$15,66 \pm 0,71$
		Ausência de luz 25°C	40	$14,43 \pm 1,26$
Ausência de luz 4 °C		30	$23,29 \pm 1,21$	
	60	$15,39 \pm 0,93$		

*Valores representam a média de três repetições das análises em duplicata

No trabalho de Donado-Pestana et al. (2012) que avaliaram a estabilidade de carotenoides e capacidade antioxidante de cultivares de batatas doces do Brasil armazenadas a 5 °C durante 40 dias, obtiveram como resultado que a capacidade antioxidante não estava relacionada com o teor de carotenoides. Esses atribuíram a diferença de resultados a possíveis reações químicas paralelas e pela presença de outros antioxidantes naturais com diferentes modos de ação.

Castro-López et al. (2016) também atribuem a capacidade antioxidante de bebidas à base de suco de frutas não somente aos compostos fenólicos presentes, mas também a outros compostos que também possuem capacidade antioxidante como ácido ascórbico, carotenoides presentes nas frutas e suas interações.

5.4. Avaliação microbiológica da bebida isotônica durante armazenamento

O permeado, base da bebida isotônica elaborada é, por si só, um alimento praticamente estéril. Para contribuir com a baixa contaminação das bebidas isotônicas foi realizada uma

pasteurização lenta no permeado, foram adicionados conservantes químicos e as bebidas elaboradas foram envazadas em frascos de vidro previamente esterilizados.

Na Tabela 13 estão representados os valores obtidos nas contagens microbiológicas (coliformes a 35 °C, fungos filamentosos e leveduras, mesófilos aeróbios, psicrotróficos e da pesquisa de presença de *Salmonella* spp.) das bebidas isotônicas a base de permeado da ultrafiltração do soro de leite adicionado de carotenoides em pó de pequi armazenados nas temperaturas de 4 °C e 25 °C, na presença e ausência de luz, no dia de elaboração (dia zero) e durante o período do estudo de estabilidade das bebidas.

O tempo máximo em que as bebidas isotônicas ficaram estocadas de acordo com o teste de estabilidade determinou o tempo em que deveriam ser realizadas as análises microbiológicas. Para as condições presença de luz (4 °C e 25 °C) o tempo de estocagem foi igual a 30 dias, para as armazenadas na ausência de luz armazenadas a 25 °C, 40 dias, já para as armazenadas a 4 °C, 60 dias.

As bebidas isotônicas, em todas as condições em que foram estocadas, apresentaram contagens microbiológicas relativamente baixa, apresentando valores iguais a 10^1 UFC·mL⁻¹ em todos os tempos avaliados. O número mais provável de coliformes também foi inferior a 3 NMP·mL⁻¹, indicando boa qualidade microbiológica da bebida.

Não existe portaria que estabelece padrões microbiológicos para bebidas isotônicas. No entanto, a Resolução RDC 12 da ANVISA (2001) (BRASIL, 2001) estabelece padrões microbiológicos para sucos, refrescos, refrigerantes e outras bebidas não alcoólicas, excluindo os de base láctea e os de chocolate (cacau e similares). Essa resolução recomenda que o produto esteja ausente de coliformes a 35 °C e *Salmonella* spp. para amostra indicativa. Os resultados obtidos estão condizentes com essa resolução.

Baixas contagens de mesófilos aeróbios, bolores e leveduras também foram observadas por De Marchi, Monteiro, & Cardello (2003), em bebidas isotônicas naturais de maracujá e Santos, Alves, & Lima (2013) em bebidas isotônicas orgânicas de tangerina.

A Portaria 451 do Ministério da Saúde, de 19 de setembro de 1997 (BRASIL, 1997) estabelece valor máximo permitido igual 10^4 UFC·mL⁻¹ para contagem de bolores e leveduras, indicando que a bebida, apesar de apresentar base láctea, encontra-se dentro dos padrões exigidos por essa Portaria durante todo o período de vida útil.

Os resultados obtidos nesse trabalho demonstram qualidade microbiológica favorável, evidenciando boas condições higiênico-sanitárias em todas as etapas do processamento, assim

como estabilidade microbiológica quanto ao crescimento de microrganismos durante toda a vida útil do produto.

O permeado, base da bebida, praticamente estéril e pasteurizado, a baixa contagem de microrganismos inicial da bebida, a adição de conservantes químicos e o baixo valor final de pH da bebida elaborada retardaram a multiplicação de microrganismos, principalmente as bactérias.

Assim sendo, o aspecto microbiológico não foi um fator determinante do tempo de vida útil do produto nas condições estudadas.

Tabela 13: Contagens microbiológicas de coliformes a 35 °C, fungos filamentosos e leveduras, mesófilos aeróbios e pesquisa de *Salmonella* spp. em amostras da bebida isotônica.

Microorganismo	Tempo (dias)	Condição			
		Luz 25 °C	Luz 4 °C	Ausência de luz 25 °C	Ausência de luz 4 °C
Coliformes a 35 °C (NMP·mL ⁻¹)	0	< 3	< 3	< 3	< 3
	30	< 3	< 3	< 3	< 3
	40			< 3	
	60				< 3
Fungos filamentosos e leveduras (UFC·mL ⁻¹)	0	< 1,0 x 10 ¹	< 1,0 x 10 ¹	< 1,0 x 10 ¹	< 1,0 x 10 ¹
	30	< 1,3 x 10 ¹	< 1,4 x 10 ¹	< 1,5 x 10 ¹	< 2,0 x 10 ¹
	40			< 2,3 x 10 ¹	
	60				< 5,20 x 10 ¹
Mesófilos aeróbios (UFC·mL ⁻¹)	0	< 1,2 x 10 ¹	< 1,3 x 10 ¹	< 1,2 x 10 ¹	< 1,1 x 10 ¹
	30	< 3,0 x 10 ¹	< 2,7 x 10 ¹	< 2,8 x 10 ¹	< 3,3 x 10 ¹
	40				
	60				< 6,5 x 10 ¹
Psicrotróficos (UFC·mL ⁻¹)	0	< 1,0 x 10 ¹	< 1,0 x 10 ¹	< 1,0 x 10 ¹	< 1,0 x 10 ¹
	30	< 1,0 x 10 ¹	< 1,0 x 10 ¹	< 1,4 x 10 ¹	< 1,6 x 10 ¹
	40			< 1,8 x 10 ¹	
	60				< 2,2 x 10 ¹
Pesquisa de presença de <i>Salmonella</i> spp. em 25 mL	0	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência
	30	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência
	40			Ausência	
	60				Ausência

5.5. Análise sensorial da bebida isotônica

Nesse trabalho, o permeado, principal matéria-prima utilizada para a elaboração das bebidas isotônicas pode ser considerado um coproduto da indústria láctea, mas que ainda é comumente descartado em efluentes, ocasionando efeitos prejudiciais ao meio ambiente. Assim, o desenvolvimento de um novo produto que proporcione o aproveitamento do permeado com consequente transformação de resíduo em coproduto industrial pode agregar valor ao novo produto.

A aceitação de um produto pelo consumidor é essencial para seu desenvolvimento. Seus atributos sensoriais (cor, aparência, aroma, sabor, textura e outros) são responsáveis por sua aceitação, preferência ou rejeição. Pesquisas com consumidores do produto determinam quais atributos e com que intensidade esses contribuem para sua maior ou menor aceitação.

5.5.1. Teste de aceitação da bebida isotônica

Para avaliação da aceitação das bebidas isotônicas adicionadas de aroma de abacaxi e maracujá 100 praticantes de atividade física foram questionados quando aos atributos sensoriais cor, sabor, aroma e impressão global.

As médias e desvio padrão das notas atribuídas pelos provadores aos atributos em amostras de bebidas isotônicas formuladas com permeado da ultrafiltração de soro de leite adicionado de carotenoides em pó de pequi e aroma natural de abacaxi ou maracujá estão apresentados na Tabela 14.

A análise de variância (ANOVA) apontou que as médias de todos os atributos avaliados não diferiram significativamente ($p > 0,05$) entre as bebidas formuladas. As duas bebidas foram igualmente aceitas pelos provadores com relação à todos os atributos.

O atributo cor foi o que obteve maior média, 6, que indica que os consumidores gostaram ligeiramente. Os demais atributos obtiveram média acima de 5, indicando que os consumidores foram indiferentes quanto ao sabor, aroma e impressão global.

De Marchi et al. (2003) também não encontraram diferença significativa dos atributos avaliados no teste de aceitação entre bebidas isotônicas naturais de maracujá pasteurizada e não pasteurizada analisadas no tempo zero de estocagem das bebidas. Dentre os atributos avaliados nesse trabalho, a cor teve a maior média de aceitação (7,2) e os atributos aroma (6,9) e sabor (6,9) tiveram as menores médias para a bebida pasteurizada.

Tabela 14: Valores médios (\pm desvio-padrão) das notas para os atributos sensoriais avaliados para as bebidas isotônicas formuladas com permeado da ultrafiltração do soro de leite adicionado de carotenoides em pó de pequi e aroma natural de abacaxi ou maracujá

Atributo	Formulação				p > F
	Aroma de abacaxi		Aroma de maracujá		
	Média	DP	Média	DP	
Cor	6,52 ^a	1,68	6,35 ^a	1,65	0,4555
Sabor	5,32 ^a	2,13	5,39 ^a	2,25	0,8257
Aroma	5,69 ^a	1,86	5,96 ^a	1,82	0,2774
Impressão global	5,78 ^a	1,83	5,87 ^a	1,85	0,7364

Valores apresentados representam média de 100 julgadores \pm desvio padrão. Médias seguidas de letras iguais, numa mesma linha, não diferem entre si pelo teste de t ($p > 0,05$).

No trabalho de Martins, Chiapetta, Paula, & Gonçalves (2011) que elaboraram bebidas isotônicas com suco concentrado de frutas e hortaliças com diferentes processos de sanitização, tiveram como resultado que as amostras analisadas tiveram nota mínima em torno de 4,92 (aspecto geral) e máxima 6,70 (odor) para todos os atributos analisados, não diferindo estatisticamente ($p < 0,05$).

Santos et al. (2013) desenvolveram bebidas isotônicas com diferentes concentrações (5%, 10% e 15%) de suco de tangerina orgânico e avaliaram sensorialmente essas bebidas com relação aos mesmos atributos avaliados nessa pesquisa. Como resultados, o atributo cor não apresentou diferença significativa entre as três formulações ($p > 0,05$), apresentando nota igual a 6,09 para a formulação com melhor aceitação (15% de suco). A formulação com melhor aceitação diferiu estatisticamente das outras bebidas nos demais atributos, exceto em qualidade global que estatisticamente não diferiu da formulação com 10% de suco.

A fim de prever o comportamento dos consumidores frente ao mercado consumidor, foi avaliada a aceitabilidade das bebidas formuladas. Segundo Teixeira et al. (1987) valores de índice de aceitabilidade de um novo produto acima de 70% refletem positivamente na aceitação sensorial do produto por parte do consumidor.

Os índices de aceitabilidade para as formulações de bebidas isotônicas com aroma de abacaxi ou maracujá estão presentes na Tabela 15.

Tabela 15: Índice de aceitabilidade para as diferentes formulações de bebidas isotônicas

Atributo	Índice de aceitabilidade (%)	
	Aroma de abacaxi	Aroma de maracujá
Cor	72,49	70,58
Sabor	59,15	59,89
Aroma	63,17	66,24
Impressão global	64,23	65,19

De acordo com os dados obtidos, somente o atributo cor para as duas bebidas formuladas apresentaram resultados satisfatórios quanto a aceitabilidade pelos consumidores.

A bebida apresentou aceitação pelos consumidores, constituindo um produto atrativo para fabricação em larga escala, no entanto, devem ser realizados ajustes na formulação para melhorar sua aceitabilidade.

6. CONCLUSÃO

As características físicas e químicas do permeado e da bebida confirmaram que o permeado da ultrafiltração do soro de leite pode ser utilizado como base para elaboração de bebidas isotônicas.

Os carotenoides e os compostos fenólicos presentes na polpa de pequi *in natura* possuem capacidade antioxidante, o que justifica sua utilização como matéria prima para obtenção de corantes naturais, o extrato de carotenoides de pequi, com aplicabilidade em alimentos, como em bebidas isotônicas.

Durante o estudo de estabilidade ocorreram alterações das variáveis capacidade antioxidante, teor de carotenoides e cor das bebidas isotônicas adicionadas de carotenoides em pó de pequi. A condição em presença de luz apresentou maior e mais rápida redução da capacidade antioxidante, degradação dos carotenoides, e conseqüentemente perda de cor e das bebidas isotônicas.

A condição sob ausência de luz, sob refrigeração a 4 °C demonstrou ser a condição mais eficiente para o armazenamento da bebida.

As bebidas isotônicas mantiveram-se estáveis microbiologicamente durante todo o estudo de estabilidade em todas as condições de armazenamento.

Pelo teste de aceitabilidade da bebida isotônica, o produto foi aceito por seu público-alvo consumidor, praticantes de exercícios físicos, no entanto, devem ser realizados ajustes na formulação para melhorar sua aceitabilidade.

Assim, esse produto é considerado promissor para o mercado por apresentar constituintes naturais do permeado do soro de leite e pelas características bioativas dos carotenoides, compostos com capacidade antioxidante e pró vitamínicos A.

7. REFERÊNCIAS

- ALVES, A. I. **Obtenção de extrato de carotenoides de polpa de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) encapsulado pelo método de secagem por atomização.** Universidade Federal de Viçosa, 2014.
- ALVES, A. M. et al. Physical and nutritional characteristics of pequi fruits from Tocantins, Goiás e Minas Gerais. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 17, n. 3, p. 198–203, 2014.
- ANDRADE, R. S.; NETO, J. A. DE A.; LOPES, R. D. C. S. DE Q. Valorização biotecnológica de soro de leite por fermentação utilizando *Saccharomyces cerevisiae*. **Estudos Tecnológicos em Engenharia**, v. 11, n. 2, p. 82–91, 2016.
- ANDRADE, R. L. P. DE; MARTINS, J. F. P. Influência da adição da fécula de batata-doce (*Ipomoea batatas* L.) sobre a viscosidade do permeado de soro de queijo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 22, n. 3, p. 249–253, 2002.
- AOAC, A. O. A. C. **Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL**. 18. ed. Gaithersburg, MD, USA: AOAC INTERNATIONAL, 2006.
- APHA. (**American Public Health Association**). 4. ed. Washington, DC: Compedium of methods for the microbiological examination of foods, 2001.
- AQUINO, L. P. et al. Influência da secagem do pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) na qualidade do óleo extraído. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n. 2, p. 354–357, 2009.
- ARAÚJO, J. M. A. **Química de alimentos: teoria e prática**. 5. ed. Viçosa, MG: Ed. UFV, 2011.
- ARÉVALO-PINEDO, A. et al. Processamento e estudo da estabilidade de pasta de pequi (*Caryocar brasiliense*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 3520, p. 664–668, 2010.
- AZEREDO, H. M. C. Encapsulação: Aplicação à tecnologia de alimentos. **Alimentos e Nutrição**, v. 16, n. 1, p. 89–97, 2005.
- BALDASSO, C. **Concentração, Purificação e Fracionamento das Proteínas do Soro Lácteo através da Tecnologia de Separação por Membranas**. [s.l.] Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2008.
- BALDASSO, C.; BARROS, T. C.; TESSARO, I. C. Concentration and purification of whey proteins by ultrafiltration. **Desalination**, v. 278, n. 1–3, p. 381–386, 2011.
- BAPTESTINI, F. M. et al. Modelagem matemática da secagem de espuma de graviola. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 19, p. 1203–1208, 2015.
- BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A RAPID METHOD OF TOTAL LIPID EXTRACTION AND PURIFICATION. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v. 37, n. 8, p. 911–917, ago. 1959.
- BOHN, T. et al. Host-related factors explaining interindividual variability of carotenoid

bioavailability and tissue concentrations in humans. **Molecular Nutrition & Food Research**, 2017.

BOON, C. S. et al. Factors influencing the chemical stability of carotenoids in foods. **Crit Rev Food Sci Nutr**, v. 50, n. 6, p. 515–532, 2010.

BRANCO, I. G. et al. Drying kinetics and quality of uvaia (*Hexachlamys edulis* (O. Berg)) powder obtained by foam-mat drying. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 51, n. 7, p. 1703–1710, 2016.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25–30, 1995.

BRASIL. Portaria N° 451, De 19 De Setembro De 1997. **Ministério da Saúde**, v. 1997, n. 2, p. 1–12, 1997.

BRASIL. **Resolução RDC nº 12, de 02 de Janeiro de 2001 Anvisa - Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos**. Brasília - DF Diário Oficial da União, 2001.

BRASIL. Resolução RDC nº 18 de abril de 2010 - Regulamento técnico sobre alimentos para atletas. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**, 2010.

CARDOSO, L. DE M. et al. Chemical characteristics and bioactive compounds of cooked pequi fruits (*Caryocar brasiliense* Camb.) from the Brazilian Savannah. **Fruits**, v. 68, n. 1, p. 3–14, 2013.

CASTRO-LÓPEZ, C. et al. Fluctuations in phenolic content, ascorbic acid and total carotenoids and antioxidant activity of fruit beverages during storage. **Heliyon**, v. 2, n. 9, 2016.

CESAR, J. M. S. et al. Preliminary study of coconut water for graft tissues preservation in transplantation. **Revista do Colegio Brasileiro de Cirurgioes**, v. 42, n. 1, p. 43–48, 2015.

CONSTANT, P. B. L. **Microencapsulamento de Bixina: Agentes Encapsulantes, Avaliação da Qualidade e Aplicações**. Universidade Federal de Viçosa, 1999.

CORDEIRO, M. W. S. et al. Características físicas, composição químico-nutricional e dos óleos essenciais da polpa de *Caryocar brasiliense* nativo do estado de Mato Grosso. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n. 4, p. 1127–1139, 2013.

CORTEZ, N. M. S. et al. Mapping dairy plants and location strategies for whey processing in Rio de Janeiro, Brazil. **Journal of Bioenergy and Food Science**, v. 2, n. 2, p. 55–61, 2015.

COSTA, J. M. G. DA et al. Agregando valor a las frutas del cerrado brasileño: encapsulación de aceite de pequi a través del secado por atomización. **Engenharia na Agricultura**, v. 23, p. 197–204, 2016.

DAMODARAN, S.; PARJIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de alimentos de Fennema**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

DAS, B. et al. Recovery of whey proteins and lactose from dairy waste: A step towards green

- waste management. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 101, p. 27–33, 2016.
- DE MARCHI, R.; MONTEIRO, M.; CARDELLO, H. M. A. B. Avaliação da Vida-de-Prateleira de um Isotônico Natural de Maracujá (*Passiflora edulis Sims*. f. *flavicarpa* Deg.). **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 6, n. 2, p. 291–300, 2003.
- DE OLIVEIRA, I. R. N. et al. Evaluation of potential interfering agents on *in vitro* methods for the determination of the antioxidant capacity in anthocyanin extracts. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 52, n. 2, p. 511–518, 2017.
- DONADO-PESTANA, C. M. et al. Stability of Carotenoids, Total Phenolics and *In Vitro* Antioxidant Capacity in the Thermal Processing of Orange-Fleshed Sweet Potato (*Ipomoea batatas* Lam.) Cultivars Grown in Brazil. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 67, n. 3, p. 262–270, 2012.
- EÇA, K. S. et al. Development of Active Films From Pectin and Fruit Extracts: Light Protection, Antioxidant Capacity, and Compounds Stability. **Journal of Food Science**, v. 80, n. 11, p. C2389–C2396, 2015.
- EMBRAPA GADO DE LEITE. **Indicadores: Leite e derivados** EMBRAPA, Juiz de Fora, 2015.
- ESTEVINHO, B. N. et al. Microencapsulation with chitosan by spray drying for industry applications - A review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 31, n. 2, p. 138–155, 2013.
- FAEDO, R. et al. Obtenção De Leite Com Baixo Teor De Lactose Por Processos De Separação Por Membranas Associados À Hidrólise Enzimática. **Revista CIATEC-UPF**, v. 5, n. 1, p. 44–54, 15 nov. 2013.
- FONTES, E. A. F. et al. Bebida eletrolítica a base de permeado da ultrafiltração de leite: avaliação física, química e microbiológica durante o armazenamento. **Ciência Rural**, v. 45, p. 342–348, 2015.
- FRANCO, T. S. et al. Foam mat drying of yacon juice: Experimental analysis and computer simulation. **Journal of Food Engineering**, v. 158, p. 48–57, 2015.
- FRANCO, T. S. et al. Effects of foam mat drying on physicochemical and microstructural properties of yacon juice powder. **LWT - Food Science and Technology**, v. 66, p. 503–513, 2016.
- GEOCZE, K. C. et al. Essential oils from pequi fruits from the Brazilian Cerrado ecosystem. **Food Research International**, v. 54, n. 1, p. 1–8, 2013.
- GIRONÉS-VILAPLANA, A. et al. Evaluation of sensorial, phytochemical and biological properties of new isotonic beverages enriched with lemon and berries during shelf life. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 94, n. 6, p. 1090–1100, 2014.
- GOMES, J. C.; OLIVEIRA, G. F. **Análises físico-químicas de alimentos**. Viçosa, MG: Ed. UFV, 2011.
- GONÇALVES, G. A. S. et al. Qualidade dos frutos do pequi submetidos a diferentes

tempos de cozimento. **Ciencia e Agrotecnologia**, v. 35, n. 2, p. 377–385, 2011.

HAGEN, L. H. et al. Microbial community structure and dynamics during co-digestion of whey permeate and cow manure in continuous stirred tank reactor systems. **Bioresource Technology**, v. 171, p. 350–359, 2014.

HANDFORD, C. E.; CAMPBELL, K.; ELLIOTT, C. T. Impacts of Milk Fraud on Food Safety and Nutrition with Special Emphasis on Developing Countries. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 15, p. 130–142, 2015.

KADAM, D. M. et al. Physicochemical and microbial quality evaluation of foam-mat-dried pineapple powder. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 47, n. 8, p. 1654–1659, 2012.

KADAM, D. M.; BALASUBRAMANIAN, S. Foam mat drying of tomato juice. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 35, n. 4, p. 488–495, 2011.

KADAM, D. M.; WILSON, R. A.; KAUR, S. Determination of biochemical properties of foam-mat dried mango powder. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 45, n. 8, p. 1626–1632, 20 jul. 2010.

KANDASAMY, P. et al. Optimization of process parameters for foam-mat drying of papaya pulp. **Journal of Food Science and Technology**, v. 51, n. 10, p. 2526–2534, 23 out. 2012.

KAZEMIMOGHADAM, M.; MOHAMMADI, T. Chemical cleaning of ultrafiltration membranes in the milk industry. **Desalination**, v. 204, n. 1–3 SPEC. ISS., p. 213–218, 2007.

LIMA, A. Caracterização química , avaliação da atividade antioxidante in vitro e in vivo , e identificação dos compostos fenólicos presentes no Pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.). p. 182, 2008.

LIMA, A. DE et al. Composição química e compostos bioativos presentes na polpa e na amêndoa do pequi (*Caryocar brasiliense*, Camb.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 29, n. 3, p. 695–698, 2007.

LIRA, H. D. L. et al. Microfiltração do soro de leite de búfala utilizando membranas cerâmicas como alternativa ao processo de pasteurização. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n. 1, p. 33–37, 2009.

LUTEROTTI, S. et al. Comparison of spectrophotometric and HPLC methods for determination of carotenoids in foods. **Food Chemistry**, v. 140, n. 1–2, p. 390–397, 2013.

MACHADO, M. T. C.; MELLO, B. C. B. S.; HUBINGER, M. D. Study of alcoholic and aqueous extraction of pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) natural antioxidants and extracts concentration by nanofiltration. **Journal of Food Engineering**, v. 117, n. 4, p. 450–457, 2013.

MACHADO, M. T. C.; MELLO, B. C. B. S.; HUBINGER, M. D. Evaluation of pequi (*Caryocar Brasiliense* Camb.) aqueous extract quality processed by membranes. **Food and Bioproducts Processing**, v. 95, n. October 2014, p. 304–312, 2015.

MAIANI, G. et al. Carotenoids: Actual knowledge on food sources, intakes, stability and

bioavailability and their protective role in humans. **Molecular Nutrition and Food Research**, v. 53, n. SUPPL. 2, p. 194–218, 2009.

MARIANO-DA-SILVA, S. et al. Chemical characteristics of pequi fruits (*Caryocar brasiliense* Camb.) native of three municipalities in the State of Goiás - Brazil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n. 4, p. 771–777, dez. 2009.

MARQUES, T. et al. Encapsulação de compostos bioativos por coacervação complexa Encapsulation of bioactive compounds by complex coacervation. **Ciência e Natura**, v. 37, p. 56–64, 2015.

MARTINS, J. C. B.; CARBOLÁN, J. C. L.; PEREZ, E. Comportamento do potássio durante o exercício. In: **Hidratação na atividade física e no esporte: equilíbrio hidromineral**. 1. ed. Vársea Paulista: Fontoura, 2011. p. 97–115.

MARTINS, R. C. et al. Avaliação da vida de prateleira de bebida isotônica elaborada com suco concentrado de frutas e hortaliças congeladas por 30 dias. **Alimentos e Nutrição**, v. 22, n. 44, p. 623–629, 2011.

MATIOLI, G.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Microencapsulação do licopeno com ciclodextrinas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, p. 102–105, 2003.

MESNIER, X. et al. Heat and light colour stability of beverages coloured with a natural carotene emulsion: Effect of synthetic versus natural water soluble antioxidants. **Food Research International**, v. 65, n. PB, p. 149–155, 2014.

MEZZOMO, N.; FERREIRA, S. R. S. Carotenoids functionality, sources, and processing by supercritical technology: A review. **Journal of Chemistry**, v. 2016, 2016.

MORAIS, M. L. et al. Determination of antioxidant potential in vitro of brazilian Cerrado fruits. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n. 2, p. 355–360, jun. 2013.

MOREIRA, S. et al. Atividade antioxidante de urucum (*Bixa orellana* L.) in natura e encapsulado. **Revista Iberoamericana de Tecnologia Poscosecha**, v. 15, p. 201–209, 2014.

MORENO, I. L. et al. Effects of an isotonic beverage on autonomic regulation during and after exercise. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v. 10, p. 2, 2013.

NASCIMENTO, R. S. M.; COCOZZA, F. D. M. Physico-chemical characterization and biometry of fruits of “pequi” in Western Bahia. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 19, n. 8, p. 791–796, ago. 2015.

NUNES, I. L.; MERCADANTE, A. Z. Encapsulation of lycopene using spray-drying and molecular inclusion processes. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 50, n. 5, p. 893–900, set. 2007.

OLIVEIRA, M. N. S. et al. Post-harvest quality of pequi (*caryocar brasiliense* camb.) collected from the plant or after naturally falling off and subjected to slow and quick freezing. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 39, n. 1, p. 1–7, 2017.

ÖZKAN, G.; BILEK, S. E. Microencapsulation of natural food colourants. **International Journal of Nutrition and Food Sciences**, v. 3, n. 3, p. 145–156, 2014.

PARASHAR, A. et al. Incorporation of whey permeate, a dairy effluent, in ethanol fermentation to provide a zero waste solution for the dairy industry. **Journal of dairy science**, v. 99, n. 3, p. 1859–1867, 2015.

PESSOA, A. S. et al. Extraction of pequi (*Caryocar coriaceum*) pulp oil using subcritical propane: Determination of process yield and fatty acid profile. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 101, p. 95–103, 2015.

PETRUS, R. R.; ASSIS, J. DE; FARIA, F. Processamento e avaliação de estabilidade de bebida isotônica em garrafa plástica. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 3, p. 518–524, 2005.

PINHEIRO ALVES, M. et al. Soro de leite: Tecnologias para o processamento de coprodutos. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 69, n. 3, p. 212, 2014.

PINTO, M. R. M. R. **Obtenção de extrato de carotenoides de polpa de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) encapsulados pelo método de secagem em camada de espuma.** Universidade Federal de Viçosa - UFV, 2012.

QADRI, O. S.; SRIVASTAVA, A. K. Effect of microwave power on foam-mat drying of tomato pulp. **Agricultural Engineering International: CIGR Journal**, v. 16, n. 3, p. 238–244, 2014.

RE, R. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, n. 9–10, p. 1231–1237, 1999.

REGIS, W. C. B.; SOUZA, M. R. R.; SILVEIRA, R. A. DE A. Preliminary Comparison of the Chemical Components of the Different Parts of the Pequi (*Caryocar brasiliense*), which is Commercialized in the Vale do Jequitinhonha and Northern Minas Gerais. **Percorso acadêmico**, v. 3, p. 269–279, 2013.

RIBEIRO, D. M. et al. Carotenoids are related to the colour and lipid content of the pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) pulp from the Brazilian Savanna. v. 34, n. 3, p. 507–512, 2014.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **A Guide to Carotenoid Analysis in Foods**, 2001.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Avanços na pesquisa de carotenóides em alimentos: contribuições de um laboratório brasileiro. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v. 63, n. 2, p. 129–138, 2004.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; KIMURA, M.; AMAYA-FARFAN, J. **Fontes Brasileiras de carotenóides: tabela brasileira de composição de carotenoides em alimentos**, Brasília, 2008.

ROLAND, I. et al. Systematic characterization of oil-in-water emulsions for formulation design. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 263, n. 1–2, p. 85–94, 2003.

SABIONI, R. C. et al. Aproveitamento do permeado da ultrafiltração do soro de funcional, adicionada de corantes naturais extraídos do açaí (*Euterpe oleracea* Mart.). **XXXVI Encontro Nacional de Engenharia de produção**, n. Contribuições da Engenharia para Melhores Práticas de Gestão e Modernização do Brasil, p. 1–13, 2016.

- SANTANA, A. A. et al. Influence of Process Conditions on the Physicochemical Properties of Pequi Powder Produced by Spray Drying. **Drying Technology**, v. 31, n. July 2013, p. 825–836, 2013.
- SANTOS, E. DE S. M. DOS; ALVES, R. M.; LIMA, C. DE S. Development of an isotonic organic tangerine beverage (*Citrus reticulata* Blanco) and its sensorial acceptance. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 72, n. 1, p. 87–92, 2013.
- SCHUBRING, R. Colour Measurement. In: **Fishery Products**. Oxford, UK: Wiley-Blackwell, 2009. p. 127–172.
- SILVA, R. M.; POGAČNIK, L. Food, polyphenols and neuroprotection. **Neural Regeneration Research**, v. 12, n. 4, p. 582, 2017.
- SILVA, N. A. DA et al. Phenolic compounds and carotenoids from four fruits native from the Brazilian Atlantic forest. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 22, p. 5072–5084, 2014.
- SIQUEIRA, A. D. M. O.; MACHADO, E. D. C. L.; STAMFORD, T. L. M. Bebidas lácteas com soro de queijo e frutas. **Ciência Rural**, v. 43, n. 9, p. 1693–1700, 2013.
- SUAVE, J. et al. Microencapsulação : Inovação em diferentes áreas. **Revista Saúde e Ambiente**, v. 7, 2006.
- SWAIN, T.; HILLIS, W. E. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I; The quantitative analysis of phenolic constituents. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 10, n. 1, p. 63–68, jan. 1959.
- VALDUGA, E. et al. Produção de carotenoides: Microrganismos como fonte de pigmentos naturais. **Química Nova**, v. 32, n. 9, p. 2429–2436, 2009.
- VALENTE, J. A. S. **Bebida a base de permeado adicionado de extrato antociânico da casca da jaboticaba (*Myrciaria jaboticabavell. berg*): elaboração e caracterização** **Dissertação**; Universidade Federal de Viçosa, 2015.
- VENTURINI FILHO, W. G. **Bebidas não alcoólicas: Ciência e tecnologia**. 1. ed. São Paulo: Vol. 2, Blucher, 2010.
- VILAS BOAS, B. M. et al. Caracterização física, química e bioquímica do mesocarpo interno de frutos do pequi colhidos em diferentes estádios de desenvolvimento. **Ciência Rural**, v. 43, n. 12, p. 2285–2290, 2013.
- WOJTYNIAK, B.; KOŁODZIEJCZYK, J.; SZANIAWSKA, D. Production of lactic acid by ultrafiltration of fermented whey obtained in bioreactor equipped with ZOSS membrane. **Chemical Engineering Journal**, p. 2–10, 2016.
- YUAN, C. et al. Storage stability and antioxidant activity of complex of astaxanthin with hydroxypropyl- β -cyclodextrin. **Carbohydrate Polymers**, v. 91, n. 1, p. 385–389, 2013.
- ZIELINSKI, A. A. F. et al. The Association between Chromaticity, Phenolics, Carotenoids, and In Vitro Antioxidant Activity of Frozen Fruit Pulp in Brazil: An Application of Chemometrics. **Journal of Food Science**, v. 79, n. 4, 2014.

APÊNDICE

Tabela 1A: Resumo as análises físicas e químicas realizadas para caracterização das matérias primas e ingredientes.

Analito	Composição centesimal									Minerais			Capacidade antioxidante	Polifenóis totais	Osmolalidade	Índice de separação	Microbiológicas	
	Água	Proteína	Lipídios	RMF	Carboidratos totais	Aw	pH	ATT	SST	Na, K, P, Ca e Mg	Cor	Carotenoides totais	ABTS, DPPH					
																		Coliformes (35 e 45 °C), aeróbios mesófilos, fungos filamentosos e leveduras e <i>Salmonella</i> spp.
Polpa pastosa de pequi	x	x	x	x	x		x	x	x		x	x	x	x				
Carotenoides de pequi			x			x			x		x	x	x	x				
Carotenoides de pequi encapsulados	x	x	x	x	x	x	x	x	x		x	x	x	x			x	
Permeado	x	x (N total)		x	x (Lactose)		x	x	x	x	x					x		
Bebidas formuladas	x	x (N total)		x	x (Lactose)		x	x	x	x	x	x	x		x		x	x

Determinação do teor de compostos fenólicos totais.

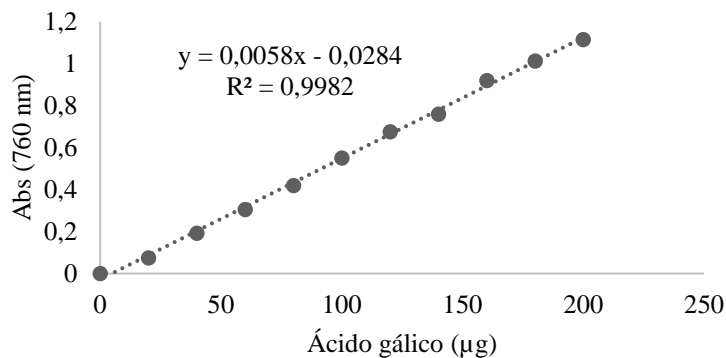


Figura 1A: Curva analítica de ácido gálico. Análise de polifenóis.

Determinação da capacidade antioxidante: Cátion radical ABTS

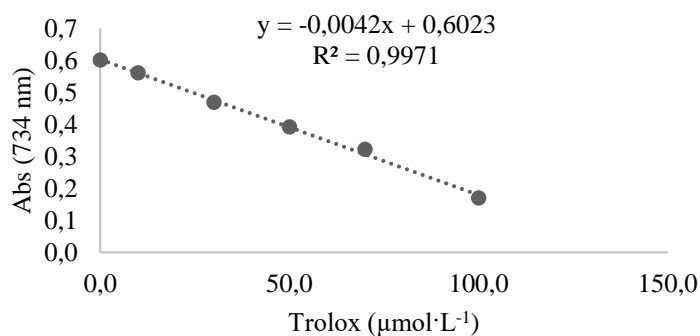
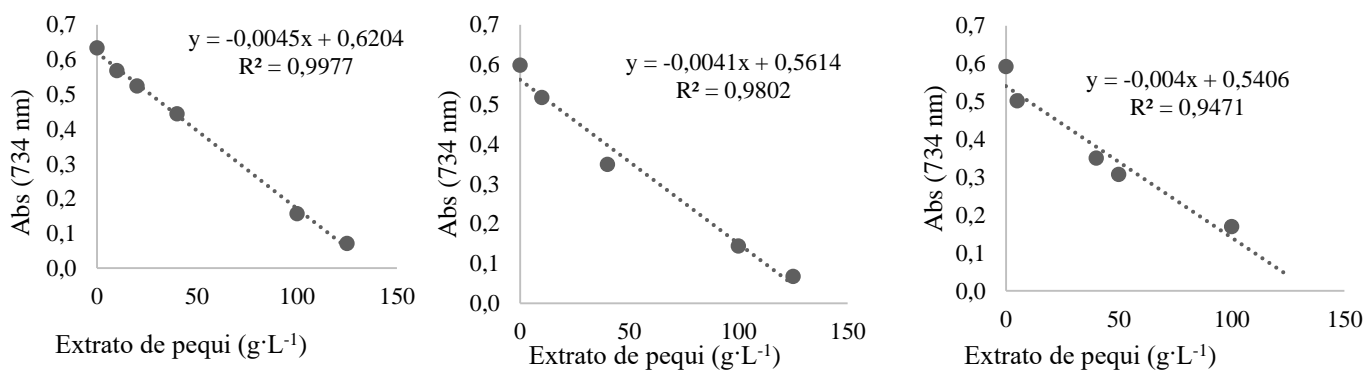
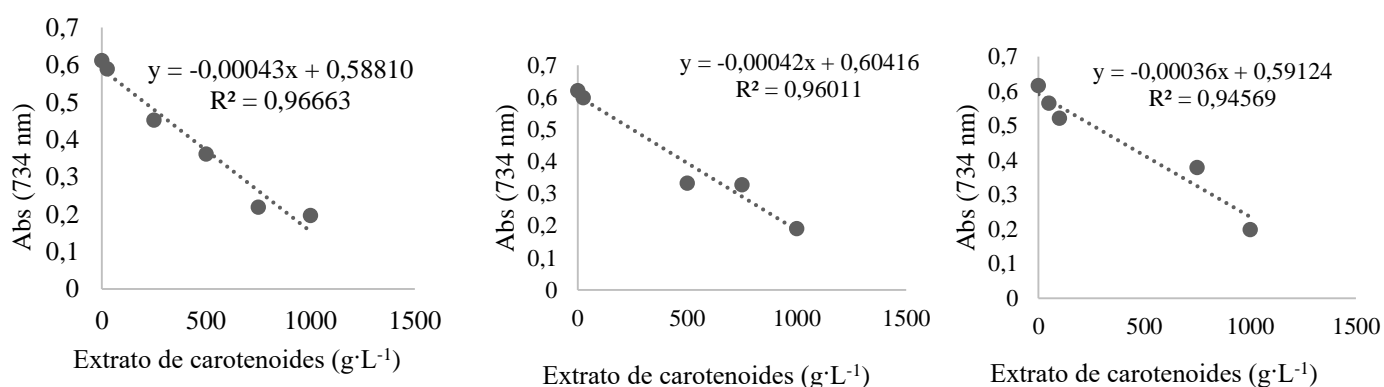


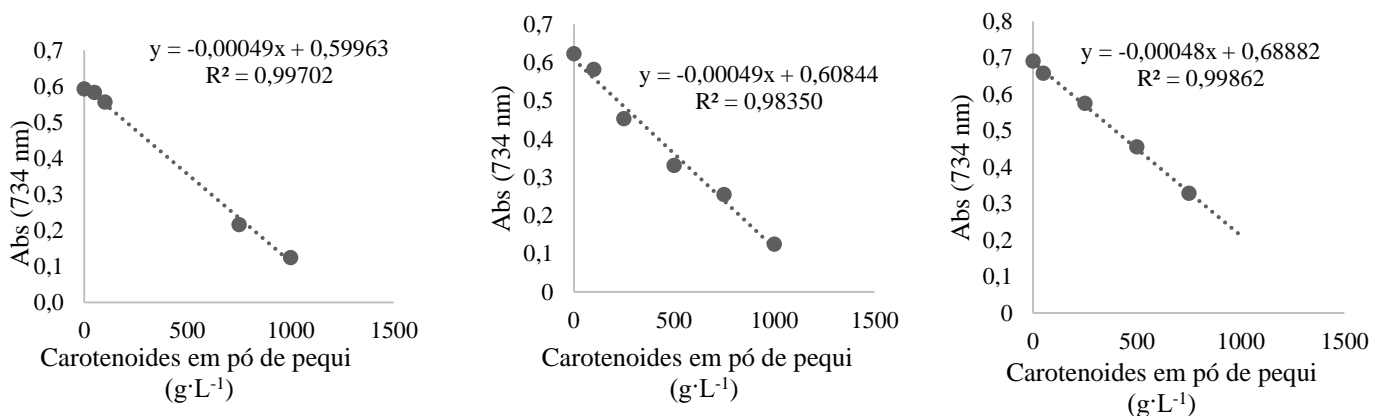
Figura 2A: Curva analítica de trolox ($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) – Análise da capacidade antioxidante pelo cátion radical ABTS



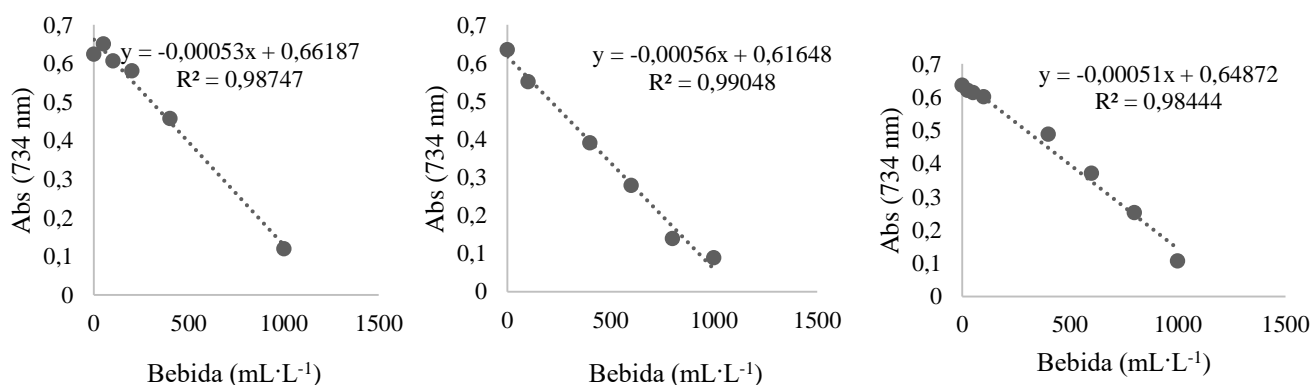
Figuras 3A, 4A e 5A: ABTS - Curvas da amostra - pequi (primeira, segunda e terceira repetição)



Figuras 6A, 7A e 8A: ABTS - Curvas da amostra – extratos de carotenoides (primeira, segunda e terceira repetição)

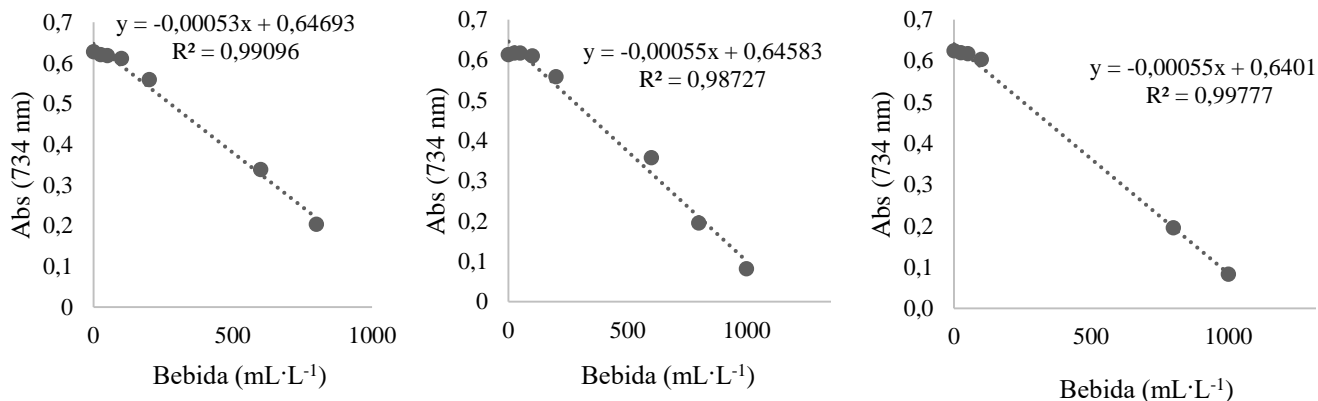


Figuras 9A, 10A e 11A: ABTS - Curvas da amostra - Carotenoides em pó de pequi (primeira, segunda e terceira repetição)

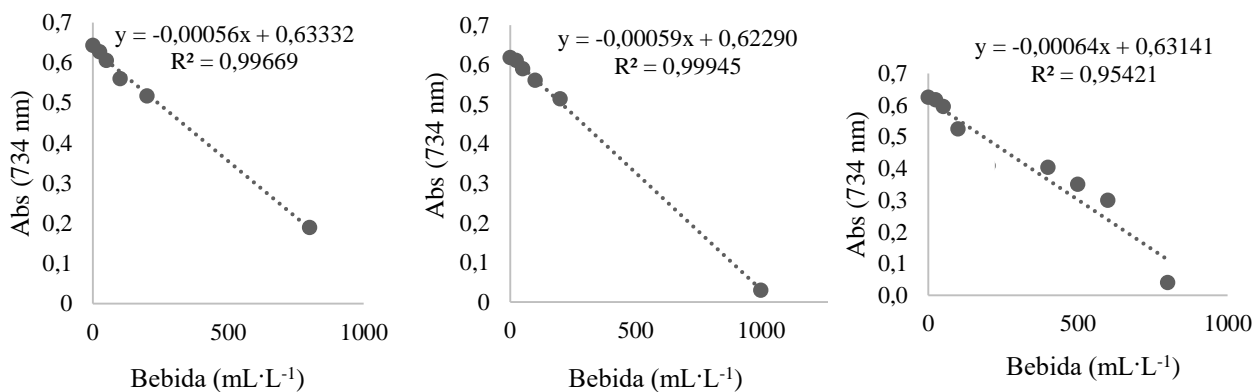


Figuras 12A, 13A e 14A: ABTS - Curvas da amostra – Bebidas isotônicas (primeira, segunda e terceira repetição)

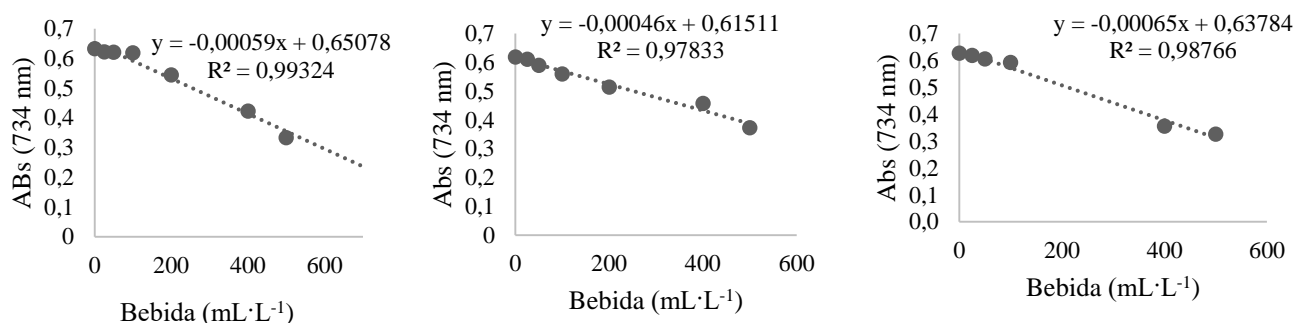
Teste de estabilidade da bebida isotônica – Capacidade antioxidante pelo radical ABTS



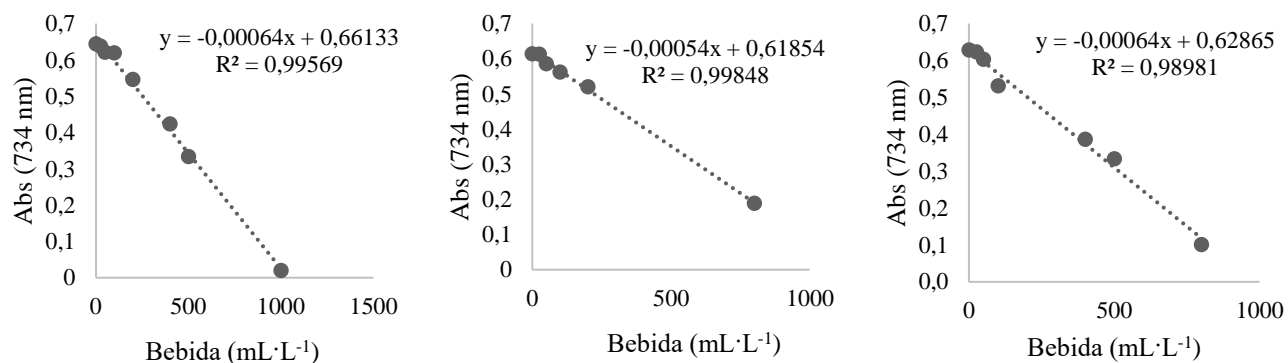
Figuras 15A, 16A e 17A: ABTS - Curvas da amostra – Bebidas isotônicas - Presença de luz a 25 °C, 1 dia (primeira, segunda e terceira repetição)



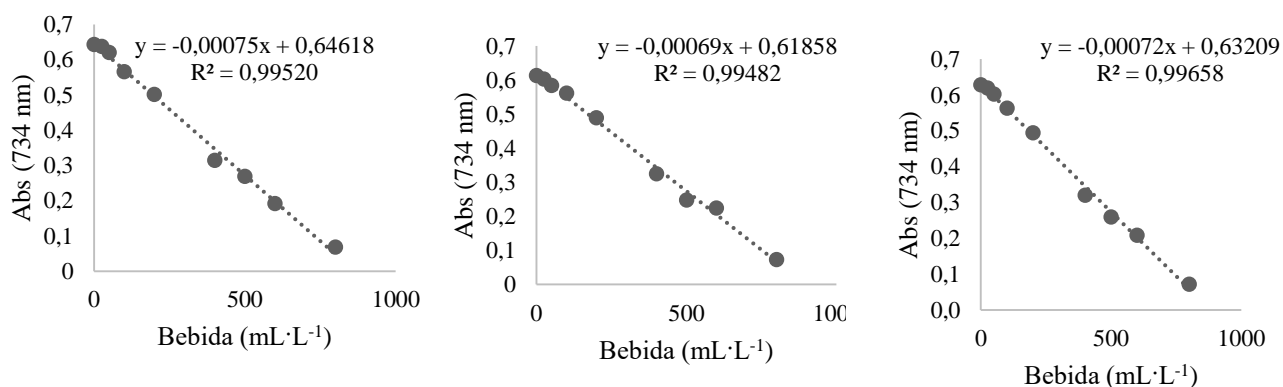
Figuras 18A, 19A e 20A: ABTS - Curvas da amostra – Bebidas isotônicas - Presença de luz a 25 °C, 14 dias (primeira, segunda e terceira repetição)



Figuras 21A, 22A e 23A: ABTS - Curvas da amostra – Bebidas isotônicas - Presença de luz a 4 °C, 3 dias (primeira, segunda e terceira repetição)



Figuras 24A, 25A e 26A: ABTS - Curvas da amostra – Bebidas isotônicas - Presença de luz a 4 °C, 21 dias (primeira, segunda e terceira repetição)



Figuras 27A, 28A e 29A: ABTS Curvas da amostra – Bebidas isotônicas – Ausência de luz a 25 °C, 40 dias (primeira, segunda e terceira repetição)

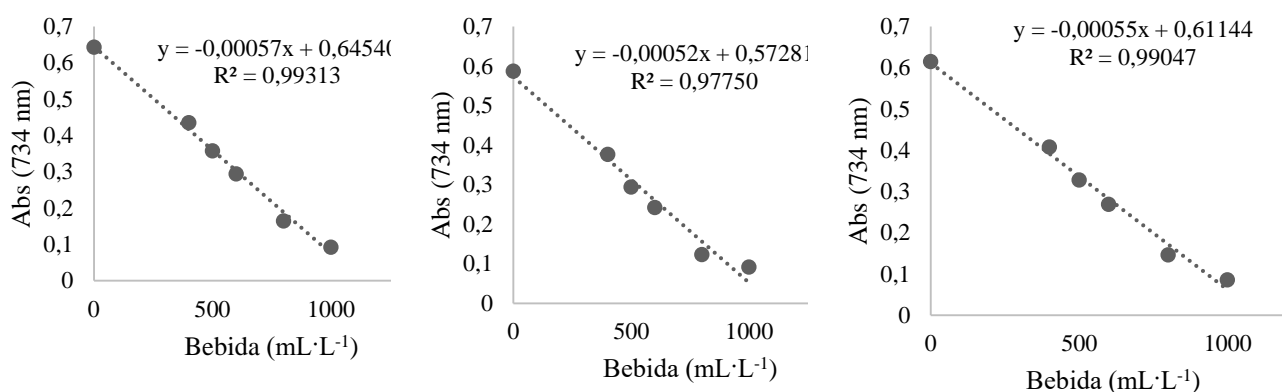


Figura 30A, 31A e 32A: ABTS - Curvas da amostra – Bebidas isotônicas - Ausência de luz a 4 °C, 30 dias (primeira, segunda e terceira repetição)

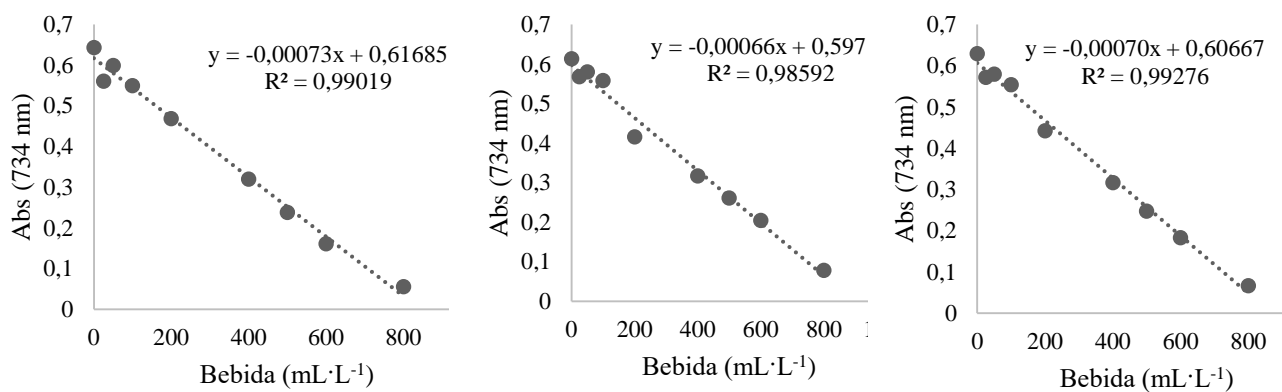


Figura 33A, 34A e 35A: ABTS - Curvas da amostra – Bebidas isotônicas - Ausência de luz a 4 °C, 60 dias (primeira, segunda e terceira repetição).

Determinação da capacidade antioxidante: Cátion radical DPPH

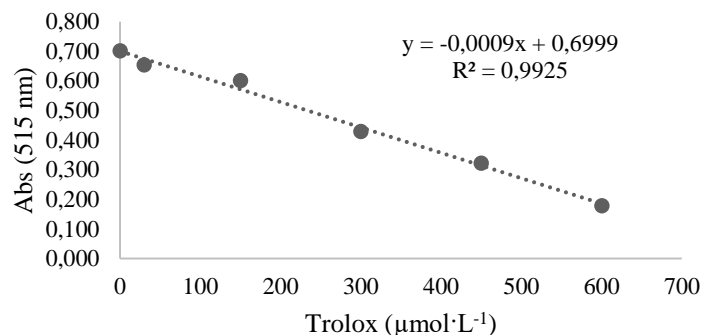
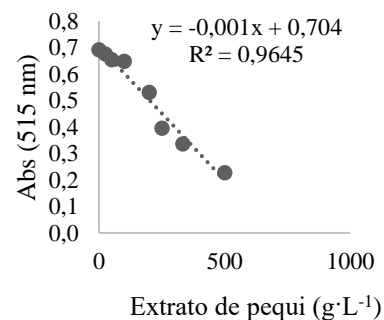
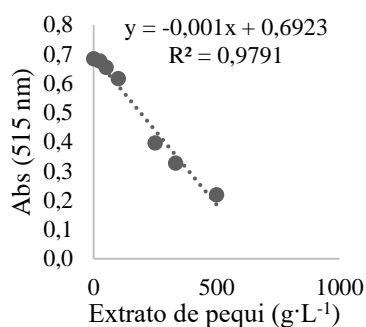
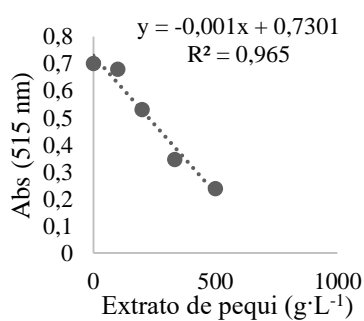
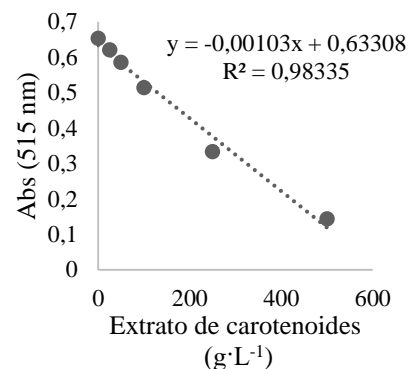
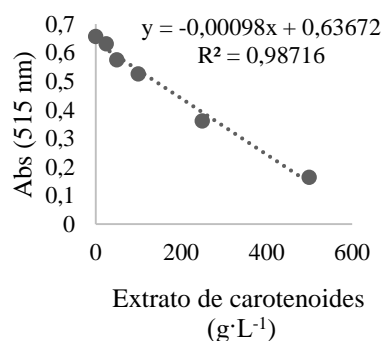
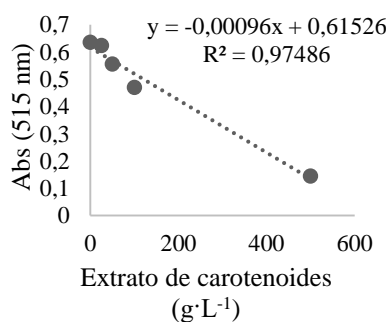


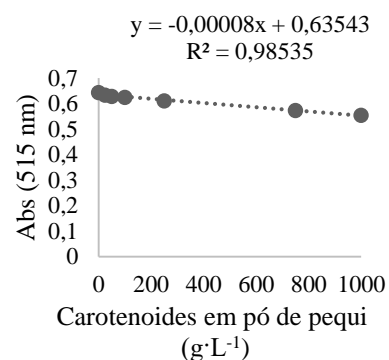
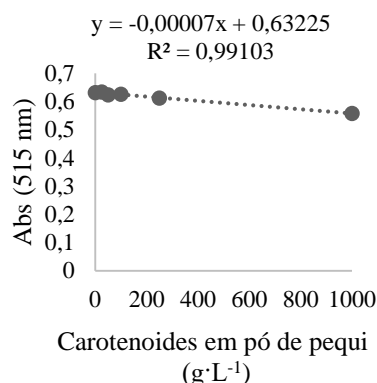
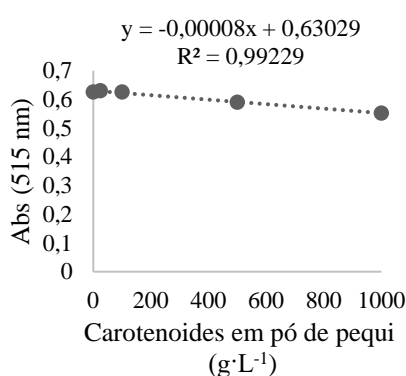
Figura 36A: Curva analítica de trolox ($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) – Análise da capacidade antioxidante pelo cátion radical DPPH



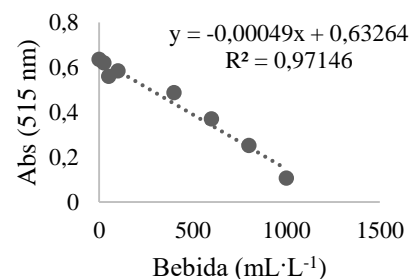
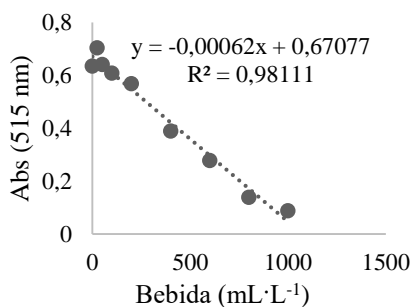
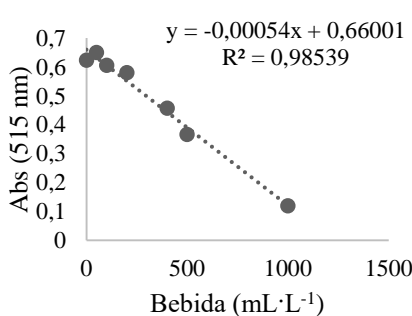
Figsuras 37A, 38A e 39A: DPPH - Curvas da amostra - pequi (primeira, segunda e terceira repetição)



Figsuras 40A, 41A e 42A: DPPH - Curvas da amostra – extratos de carotenoides (primeira, segunda e terceira repetição)

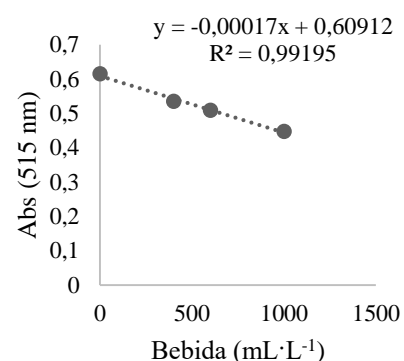
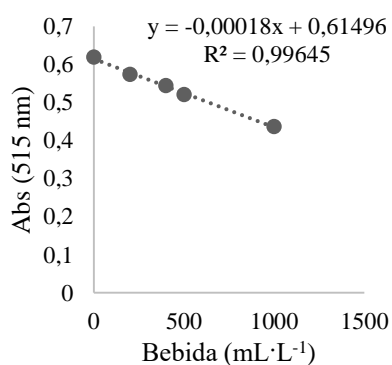
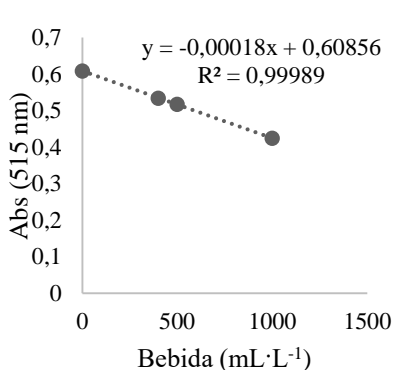


Figuras 43A, 44A e 45A: ABTS - Curvas da amostra - Carotenoides em pó de pequi (primeira, segunda e terceira repetição)

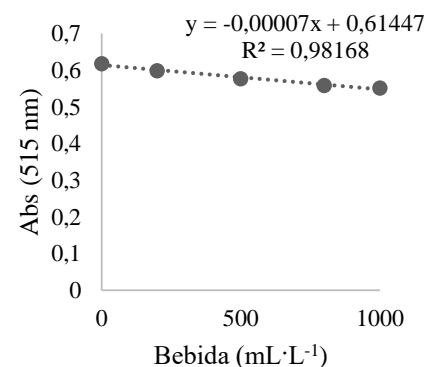
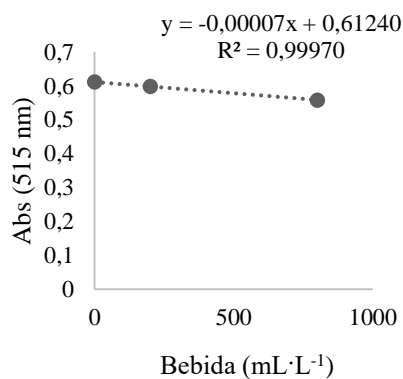
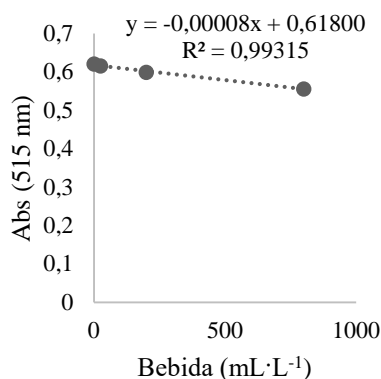


Figuras 46A, 47A e 48A: DPPH - Curvas da amostra – Bebidas isotônicas (primeira, segunda e terceira repetição)

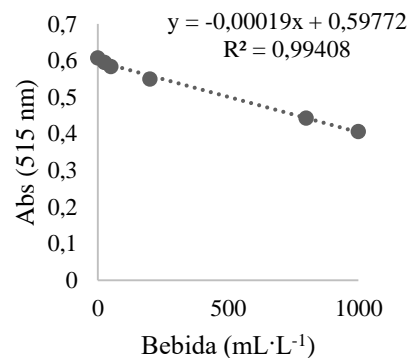
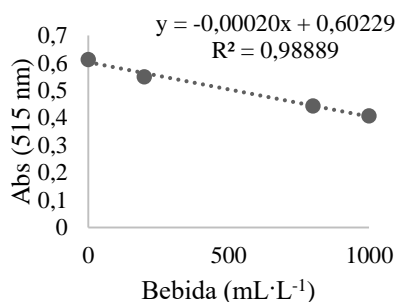
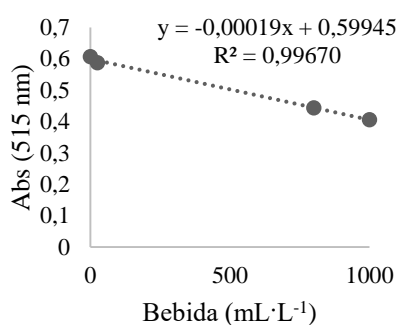
Teste de estabilidade da bebida isotônica - Capacidade antioxidante pelo radical DPPH



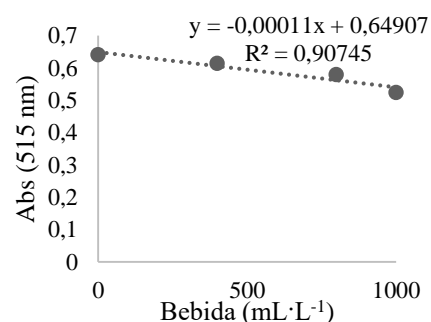
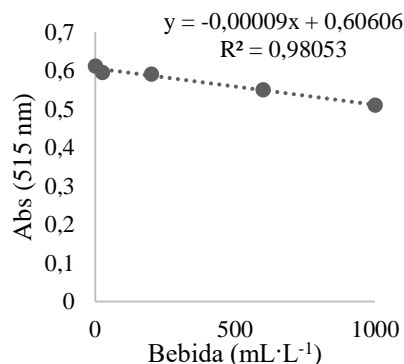
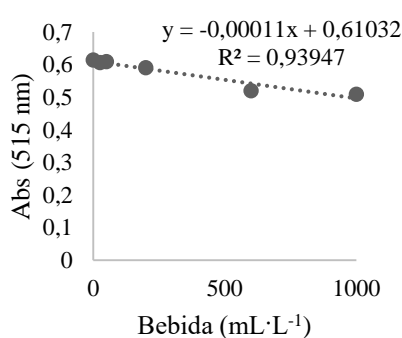
Figuras 49A, 50A e 51A: DPPH - Curvas da amostra – Bebidas isotônicas - Presença de luz a 25 °C, 1 dia (primeira, segunda e terceira repetição)



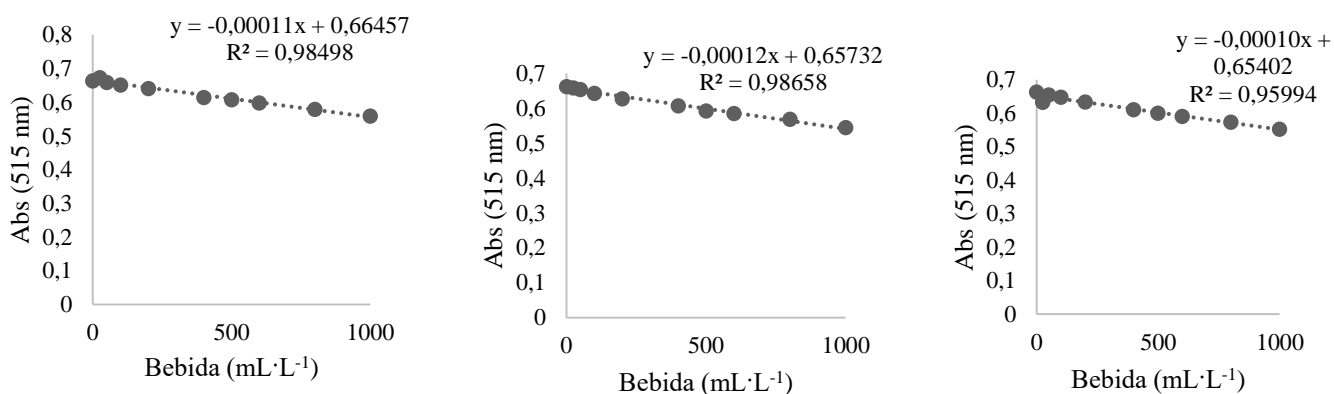
Figuras 52A, 53A e 54A: DPPH - Curvas da amostra – Bebidas isotônicas - Presença de luz a 25 °C, 14 dias (primeira, segunda e terceira repetição)



Figuras 55A, 56A e 57A: DPPH - Curvas da amostra – Bebidas isotônicas - Presença de luz a 4 °C, 3 dias (primeira, segunda e terceira repetição)



Figuras 58A, 59A e 60A: DPPH - Curvas da amostra – Bebidas isotônicas - Presença de luz a 4 °C, 21 dias (primeira, segunda e terceira repetição)



Figuras 61A, 62A e 63A: DPPH Curvas da amostra – Bebidas isotônicas – Ausência de luz a 25 °C, 40 dias (primeira, segunda e terceira repetição)

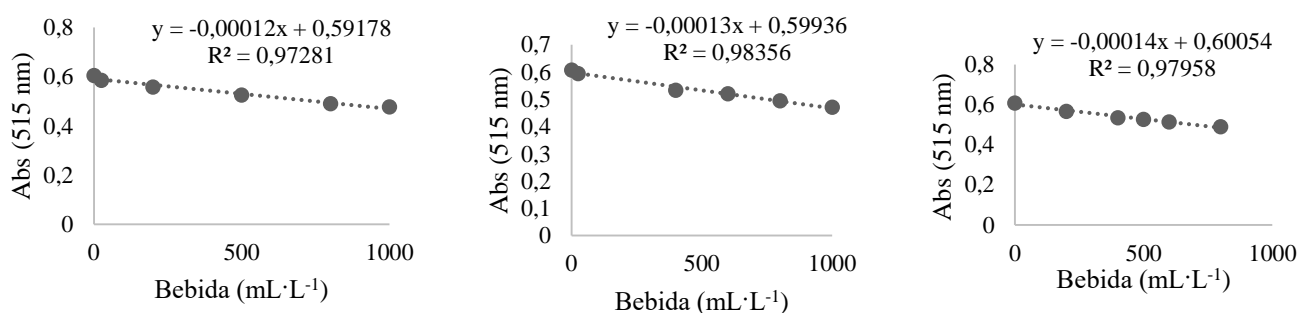


Figura 64A, 65A e 66A: DPPH - Curvas da amostra – Bebidas isotônicas - Ausência de luz a 4 °C, 30 dias (primeira, segunda e terceira repetição)

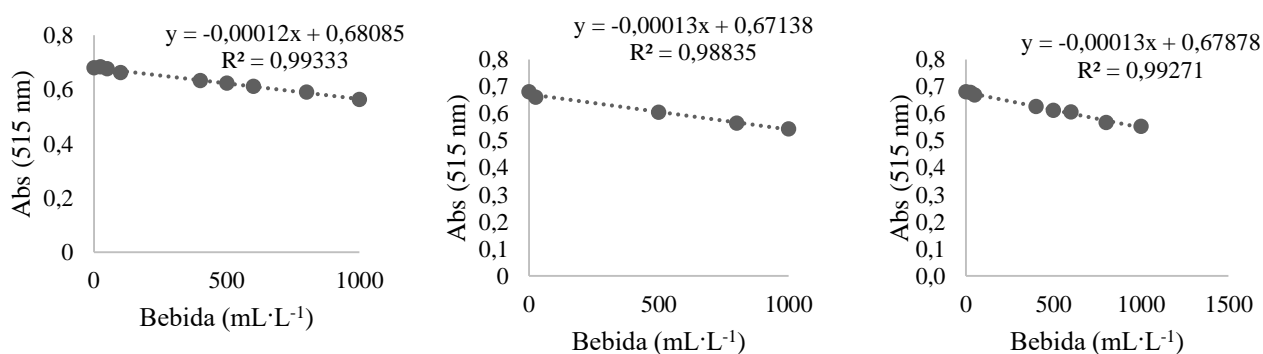


Figura 67A, 68A e 69A: ABTS - Curvas da amostra – Bebidas isotônicas - Ausência de luz a 4 °C, 60 dias (primeira, segunda e terceira repetição)

Estudo de estabilidade- Cálculo da velocidade de degradação

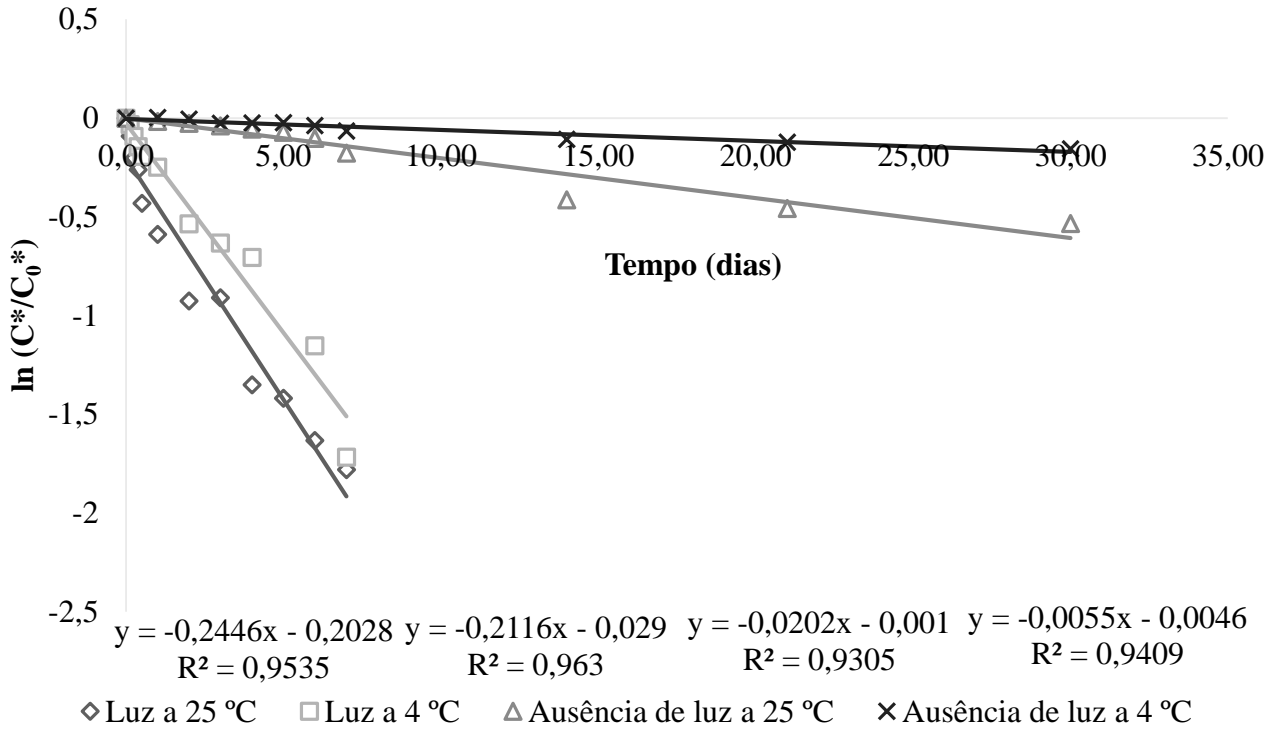


Figura 70A: Cinética de degradação coordenada C* de bebidas isotônicas armazenadas em diferentes condições.

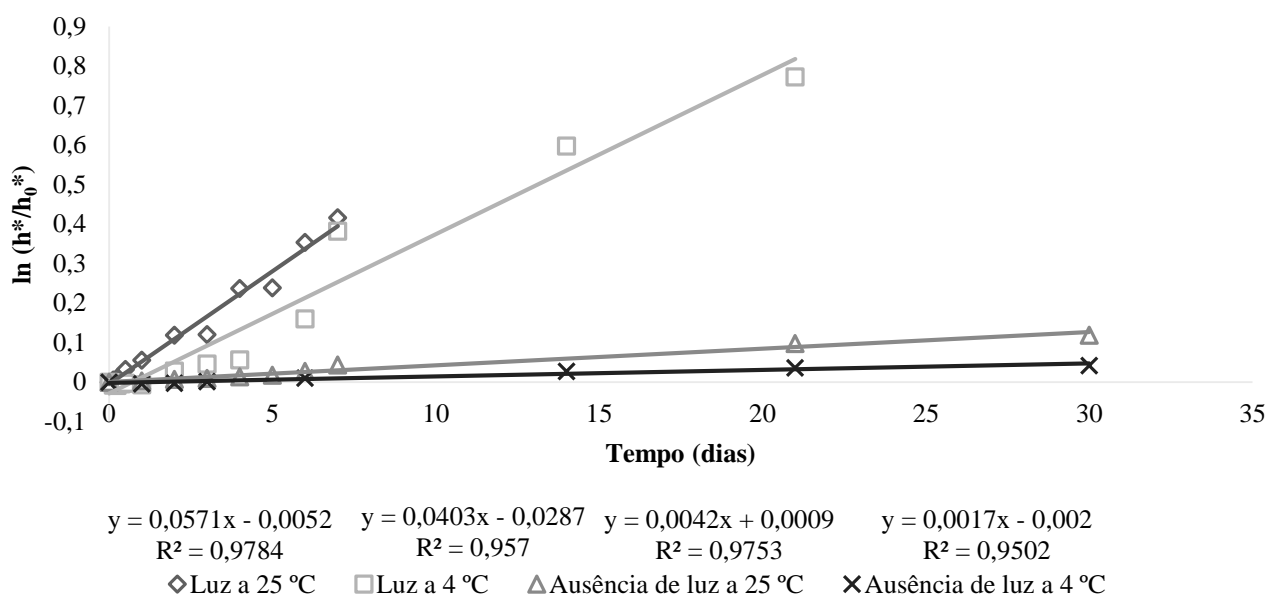


Figura 73A: Cinética de degradação coordenada h^* de bebidas isotônicas armazenadas em diferentes condições.

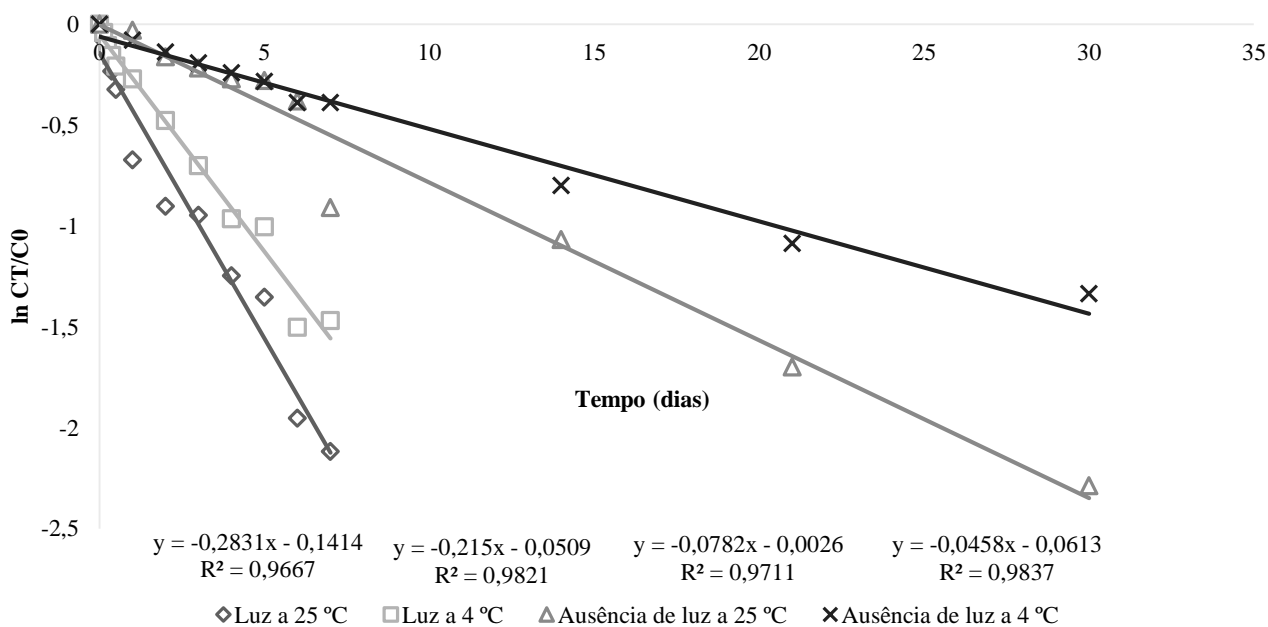


Figura 74A: Cinética de degradação do teor de carotenoides totais (CT) de bebidas isotônicas armazenadas em diferentes condições.