



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E**  
**CIÊNCIA DE ALIMENTOS**



Área de Concentração: Ciência de Alimentos

**ADIÇÃO DE “MEL DE CACAU” E DE PITAYA VERMELHA (*Hylocereus polyrhizus*)**  
**EM FORMULAÇÕES DE ISOTÔNICOS COM POTENCIAL FUNCIONAL**

**Autora:** Mariana Romana Correia Santos

**Orientador:** DSc. Marcondes Viana da Silva

ITAPETINGA  
BAHIA – BRASIL  
Fevereiro de 2020

**MARIANA ROMANA CORREIA SANTOS**

**ADIÇÃO DE “MEL DE CACAU” E DE PITAYA VERMELHA (*Hylocereus polyrhizus*)  
EM FORMULAÇÕES DE ISOTÔNICOS COM POTENCIAL FUNCIONAL**

Dissertação apresentada como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Engenharia e Ciências de Alimentos, no programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia.

**Orientador:** DSc. Marcondes Viana da Silva

**Co-orientador:** DSc. Leandro Soares Santos

ITAPETINGA  
BAHIA – BRASIL  
Fevereiro de 2020

633.74 Santos, Mariana Romana Correia  
S236a Adição de “mel de cacau” e de pitaya vermelha (*Hylocereus polyrhizus*) em formulações de isotônicos com potencial funcional. / Mariana Romana Correia Santos. - Itapetinga: UESB, 2020.  
119f.

Dissertação apresentada como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Engenharia e Ciências de Alimentos, no programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Sob a orientação do Prof. D.Sc. Marcondes Viana da Silva e coorientação do Prof. D.Sc. Leandro Soares Santos.

1. Cacau - Pitaya vermelha - Isotônico. 2. Isotônico antioxidante - Mel de cacau - Pitaya vermelha. 3. Isotônico - Corantes naturais - Avaliação sensorial. I. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Programa de Pós-graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos. II. Silva, Marcondes Viana da. III. Santos, Leandro Soares. IV. Título.

**CDD(21): 633.74**

Catálogo na fonte:

Adalice Gustavo da Silva – CRB/5-535

Bibliotecária – UESB – Campus de Itapetinga-BA

Índice Sistemático para Desdobramento por Assunto:

1. Cacau - Pitaya vermelha - Isotônico
2. Isotônico antioxidante - Mel de cacau - Pitaya vermelha
3. Isotônico - Corantes naturais - Avaliação sensorial



PROFESSORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
ENGENHARIA E CIÊNCIA DE ALIMENTOS  
Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - UESB  
Reconhecida pelo Decreto Estadual  
N° 16.025, de 04.07.2016



Governo do  
Estado da Bahia

## DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO

**Título:** ADIÇÃO DE “MEL DE CACAU” E DE PITAYA VERMELHA (*Hylocereus polyrhizus*) EM FORMULAÇÕES DE ISOTÔNICOS COM POTENCIAL FUNCIONAL.

**Autor (a):** MARIANA ROMANA CORREIA SANTOS

**Orientador (a):** Prof. Dr. Marcondes Viana da Silva

**Coorientador (a):** Prof. Dr. Leandro Soares Santos

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de **MESTRE EM ENGENHARIA E CIÊNCIA DE ALIMENTOS, ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: CIÊNCIA DE ALIMENTOS**, pela Banca Examinadora.

Prof.ª Dr.ª Gabrielle Cardoso Reis Fontan  
UESB

Prof.ª Dr.ª Suzana Caetano da Silva Lannes  
Membro Externo - USP

Prof. Dr. Marcondes Viana da Silva  
Orientador - UESB  
Presidente da Banca

Itapetinga-BA, 02 de março de 2020.

*“Construí amigos, enfrentei derrotas, venci obstáculos,  
bati na porta da vida e disse-lhe: Não tenho medo de vivê-la.”*

Augusto Cury

*À Deus*  
*Aos meus filhos*  
*Aos meus pais*  
*Ao meu esposo*  
*Aos meus familiares*  
*Dedico!*

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida, por estar sempre ao meu lado, por me fortalecer todos os dias e me por guiar sempre rumo às minhas conquistas.

Aos meus pais Pedro e Neuza, por serem o meu exemplo de vida, por nunca medirem esforços para que meus sonhos se transformassem em realidade, e pelo incentivo em todos os momentos, acreditando sempre no meu potencial.

Ao meu esposo Leandro, pela paciência, por ser meu amigo confidente, e estar sempre me encorajando, estando ao meu lado nos momentos mais difíceis, com todo amor e carinho.

Aos meus filhos Pedro Gustavo e Isabela, pela compreensão, pelo amor incondicional, pela alegria diária, essa conquista é pensando no futuro de vocês. Mãe ama muito!

Aos meus irmãos Janine e Pedro Antônio, por sempre acreditarem em mim, por me apoiar, mesmo estando distantes.

Aos meus sogros, cunhados e sobrinhos, por estarem presentes na minha vida, demonstrando-me que família é amor, união, confiança e porto seguro.

Ao professor *DSc.* Marcondes Viana, pela orientação, paciência, compreensão, pelos conhecimentos e ensinamentos compartilhados e por ter acreditado no meu trabalho.

Ao professor *DSc.* Leandro Soares, pela co-orientação e auxílio no desenvolvimento desta pesquisa, e por acreditar no meu potencial.

A professora *DSc.* Gabrielle Fontan, por sua disponibilidade e contribuições no desenvolvimento da análise sensorial desta pesquisa.

Ao professor *DSc.* Danilo Junqueira por sua disponibilidade e auxílio para a determinação de minerais dos isotônicos.

Ao professor *DSc.* Anderson Souza e ao colega Rafael Pena da Universidade Federal da Bahia (UFBA), pela generosidade, pela amizade e por realizarem as análises para determinação de minerais dos isotônicos.

À Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB) pela oportunidade e aperfeiçoamento profissional.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de mestrado.

Ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciências de Alimentos e aos docentes do programa, pelos ensinamentos e por ampliarem meu conhecimento na área de alimentos.

À Cooleite por disponibilizar o laboratório para a realização da análise de osmolaridade dos isotônicos.

Ao empresário Marcelo Abrantes, por ceder gentilmente o “mel de cacau”, matéria-

prima necessária para execução desta pesquisa.

Aos organizadores do evento de Ciclismo Pedal Bruto, por ceder o espaço para realização da análise sensorial, e aos provadores, por aceitarem participar voluntariamente desta pesquisa.

Aos colegas do Núcleo de Estudos em Ciência de Alimentos (NECAL), por compartilharem os desafios no desenvolvimento da pesquisa. As colegas Marília e Cristina, pela paciência, pelos ensinamentos e por serem companheiras durante a realização de toda a pesquisa. Aos ICs Nádjia, Lorrán, Ícaro e Tawana, e as estagiárias, Milca e Niébly, pelo apoio durante o experimento.

À banca examinadora por aceitar o convite e pelas contribuições.

Às amigas do mestrado Ingrid, Amanda, Annie e Heliara, por todo apoio, incentivo e compreensão em todos os momentos dessa jornada. Amigas que levarei sempre em meu coração!

A todos os colegas do programa pela convivência e parceria durante essa jornada. Em especial, à Márjorie, pelo apoio e conhecimento compartilhado durante o experimento.

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

## SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS .....	xi
LISTA DE TABELAS .....	xiii
RESUMO .....	xv
ABSTRACT .....	xvi
1. INTRODUÇÃO .....	17
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	19
2.1. Isotônicos: visão geral .....	19
2.2. “Mel de cacau”: coproduto do cacau.....	26
2.2.1. Conceituação .....	26
2.2.2. Composição nutricional e propriedades bioativas.....	27
2.3. Pitaya Vermelha ( <i>Hylocereus polyrhizus</i> ).....	29
2.3.1 Aspectos gerais.....	29
2.3.2. Caracterização geral e propriedades bioativas .....	30
2.4. Corantes alimentícios .....	39
2.4.1. Corantes sintéticos e naturais .....	39
2.4.2. Betalainas: composição química .....	41
2.5. Compostos bioativos .....	44
2.5.1. Fenólicos totais.....	46
2.6. Estabilidade de bebidas: aspectos gerais .....	48
3. OBJETIVOS .....	51
3.1. Objetivo geral .....	51
3.2. Objetivos específicos.....	51
4. METODOLOGIA .....	52
4.1. Obtenção da matéria-prima .....	52
4.2. Obtenção dos extratos hidroetanólicos (EH) da pitaya vermelha .....	53
4.3. Investigação de antinutrientes na casca de pitaya vermelha .....	54
4.3.1. Determinação de nitratos.....	54
4.3.2. Determinação de saponinas .....	54
4.3.3. Determinação de oxalatos .....	54
4.3.4. Determinação de fitatos.....	54
4.4. Investigação da citotoxicidade do extrato hidroetanólico concentrado da casca (EH_C) de pitaya vermelha.....	55
4.5. Caracterização físico-química do “mel de cacau” e dos EH de pitaya vermelha .....	55

4.5.1. Determinação do pH.....	55
4.5.2. Determinação da acidez titulável total (ATT).....	56
4.5.3. Determinação sólidos solúveis totais (SST).....	56
4.5.4. Determinação de açúcares (reduzores, não reduzores e totais).....	56
4.6. Determinação do perfil de minerais do “mel de cacau”.....	56
4.6.1. Digestão das amostras .....	56
4.6.2. Quantificação dos minerais .....	57
4.7. Caracterização química do “mel de cacau” e dos EH de pitaya vermelha.....	57
4.7.1. Determinação de constituintes fenólicos totais (CFT) .....	57
4.7.2. Determinação de betalainas totais .....	58
4.7.3. Determinação de flavonoides totais (FT) .....	58
4.8. Determinação da capacidade antioxidante do “mel de cacau” e dos EH de pitaya vermelha.....	58
4.8.1. Método do radical 2,2-Difenil-1-picril-hidrazil (DPPH).....	58
4.8.2. Determinação do Poder Redutor (PR).....	59
4.8.3. Determinação da oxidação acoplada do $\beta$ -caroteno e ácido linoleico.....	59
4.9. Elaboração das formulações de isotônicos.....	60
4.9.1. Caracterização físico-químicas das formulações de isotônicos.....	61
4.9.2. Caracterização química das formulações de isotônicos .....	61
4.9.3. Determinação da osmolaridade das formulações de isotônicos .....	61
4.9.4. Determinação da capacidade antioxidante das formulações de isotônicos .....	62
4.9.4.1. Determinação da degradação oxidativa da 2-desoxirribose (2-DR) .....	62
4.9.5. Composição nutricional das formulações de isotônicos.....	63
4.9.5.1. Determinação de proteínas .....	63
4.9.5.2. Determinação de lipídios.....	63
4.9.5.3. Determinação de açúcares (reduzores, não reduzores e totais) .....	63
4.9.5.4. Valor calórico total.....	64
4.9.6. Determinação do perfil de minerais das formulações de isotônicos .....	64
4.9.7. Determinação objetiva de cor das formulações de isotônicos.....	64
4.9.8. Análise microbiológica das formulações de isotônicos .....	64
4.10. Estabilidade das formulações de isotônicos .....	65
4.11. Análise sensorial das formulações de isotônicos.....	65
4.12. Delineamento estatístico.....	65
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	67

5.1. Investigação de antinutrientes na casca de pitaya vermelha .....	67
5.2. Investigação da citotoxicidade do extrato hidroetanólico concentrado da casca (EH_C) de pitaya vermelha.....	68
5.3. Caracterização físico-química das matérias-primas (“mel de cacau” e casca e polpa de pitaya vermelha) .....	69
5.4. Caracterização química e capacidade antioxidante das matérias-primas (“mel de cacau” e EH_C e EH_P de pitaya vermelha) .....	72
5.5. Elaboração das formulações de isotônicos .....	74
5.6. Caracterização físico-química das formulações de isotônicos .....	75
5.7. Composição nutricional das formulações de isotônicos .....	79
5.8. Caracterização química e capacidade antioxidante das formulações de isotônicos..	83
5.9. Estabilidade das formulações de isotônicos durante o armazenamento.....	87
5.9.1. Caracterização química.....	87
5.9.1.1. Betalainas totais.....	87
5.9.1.2. Constituintes fenólicos totais (CFT) .....	89
5.9.1.3. Determinação objetiva de cor.....	92
5.10. Análise microbiológica.....	97
5.11. Análise sensorial.....	99
5.11.1. Teste de aceitação dos isotônicos .....	99
5.11.2. Intenção de Compra .....	101
6. CONCLUSÃO .....	103
REFERÊNCIAS.....	104
APÊNDICE I .....	116
APÊNDICE II .....	117
APÊNDICE III.....	118

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Fluxograma do processo de extração do "mel de cacau".	26
<b>Figura 2.</b> Ilustração dos frutos da pitaya vermelha.	30
<b>Figura 3.</b> Estrutura química do ácido betalâmico, das duas classes básicas de betalainas, betacianinas (betanidina e betanina) e betaxantinas (indicaxantina e vulgaxantina I).	42
<b>Figura 4.</b> Biossíntese de betalainas.	43
<b>Figura 5.</b> Classificação dos fitoquímicos.	45
<b>Figura 6.</b> Ilustração da prensagem dos frutos do cacau para obtenção do “mel de cacau”.	52
<b>Figura 7.</b> Ilustração do evaporador rotativo (a) e dos extratos hidroetanólicos (EH) concentrados da casca (b) e polpa de pitaya vermelha (c).	53
<b>Figura 8.</b> Ilustração das formulações de isotônicos.	61
<b>Figura 9.</b> Ilustração do crioscópio.	62
<b>Figura 10.</b> Representação gráfica da concentração de “mel de cacau” nas formulações dos isotônicos em relação aos valores da osmolaridade.	75
<b>Figura 11.</b> Representação gráfica da estabilidade das formulações de isotônicos para as determinações de betalainas, expresso em valores de betanina.	88
<b>Figura 12.</b> Representação gráfica da estabilidade dos isotônicos para determinação de betalainas, expresso em valores de indicaxantina.	89
<b>Figura 13.</b> Representação gráfica da estabilidade das bebidas em relação aos teores de CFT.	91
<b>Figura 14.</b> Ilustração das formulações de isotônicos, com a presença de partículas sedimentadas, armazenadas a temperatura ambiente (A) e sob refrigeração (B).	91
<b>Figura 15.</b> Representação gráfica da estabilidade das formulações de isotônicos quanto ao parâmetro de cor L*.	93
<b>Figura 16.</b> Representação gráfica da estabilidade das formulações de isotônicos quanto ao parâmetro de cor a*.	94
<b>Figura 17.</b> Representação gráfica da estabilidade das formulações de isotônicos para o parâmetro de cor b*.	95
<b>Figura 18.</b> Representação gráfica da estabilidade das formulações de isotônicos para o parâmetro de cor c*.	95
<b>Figura 19.</b> Representação gráfica da estabilidade das formulações de isotônicos para o parâmetro de cor h*.	96
<b>Figura 20.</b> Ilustração das formulações de isotônicos armazenadas sob refrigeração (4 °C), coloração rosa claro (A), e em temperatura ambiente (25 °C), coloração transparente (B), após	

30 dias.....	97
<b>Figura 21.</b> Representação gráfica do teste de aceitação das formulações de isotônicos, referente ao atributo cor.....	100
<b>Figura 22.</b> Representação gráfica da intenção de compra das formulações de isotônicos....	101

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Estudos que incorporaram extratos de frutas e vegetais em isotônicos disponíveis na literatura no período de 2011 a 2019. ....	21
<b>Tabela 2.</b> Composição físico-química e química do "mel de cacau". ....	28
<b>Tabela 3.</b> Indicadores dos constituintes fenólicos totais, atividade antioxidante no “mel de cacau”. ....	29
<b>Tabela 4.</b> Composição físico-química da pitaya vermelha ( <i>Hylocereus polyrhizus</i> ). ....	31
<b>Tabela 5.</b> Composição nutricional de casca e polpa de pitaya vermelha em base úmida (%). ....	32
<b>Tabela 6.</b> Estudos que determinaram a presença dos compostos bioativos na pitaya vermelha ( <i>Hylocereus polyrhizus</i> ), período de 2010 a 2019. ....	34
<b>Tabela 7.</b> Caracterização química da pitaya vermelha. ....	38
<b>Tabela 8.</b> Classe dos fenólicos e seus principais componentes bioativos. ....	47
<b>Tabela 9.</b> Elaboração das formulações de isotônicos. ....	60
<b>Tabela 10.</b> Resultados das análises de fatores antinutricionais da casca de pitaya vermelha. ....	67
<b>Tabela 11.</b> Caracterização físico-química do “mel de cacau”. ....	69
<b>Tabela 12.</b> Teores médios da composição mineral do "mel de cacau". ....	70
<b>Tabela 13.</b> Valores médios $\pm$ desvio padrão da caracterização físico-química dos extratos hidroetanólicos concentrados da casca (EH_C) e polpa (EH_P) de pitaya vermelha. ....	71
<b>Tabela 14.</b> Valores médios $\pm$ desvio padrão da caracterização química e capacidade antioxidante do “mel de cacau”, EH_C e EH_P de pitaya vermelha. ....	72
<b>Tabela 15.</b> Características físico-químicas dos isotônicos formulados com diferentes porcentagens de "mel de cacau". ....	78
<b>Tabela 16.</b> Composição nutricional dos isotônicos formulados com diferentes porcentagens de “mel de cacau”. ....	82
<b>Tabela 17.</b> Valores médios $\pm$ desvio padrão, equações de regressão ajustadas e coeficiente de determinação (R <sup>2</sup> ) das características químicas e capacidade antioxidante das formulações de isotônicos. ....	86
<b>Tabela 18.</b> Equações e coeficientes de determinação (R <sup>2</sup> ) estimados para as determinações de betalainas dos isotônicos em função do tempo de armazenamento durante 30 dias, sob refrigeração (4 °C) e a temperatura ambiente (25 °C). ....	87
<b>Tabela 19.</b> Equações e coeficientes de determinação (R <sup>2</sup> ) estimados para análise de CFT dos isotônicos em função do armazenamento durante 30 dias, sob refrigeração (4 °C) e a temperatura ambiente (25 °C). ....	90
<b>Tabela 20.</b> Equações e coeficientes de determinação (R <sup>2</sup> ) estimados para análise de cor dos	

isotônicos estocados durante 30 dias de armazenamento sob refrigeração (4 °C) e a temperatura ambiente (25 °C).....	92
<b>Tabela 21.</b> Contagens microbiológicas de coliformes totais, Escherichia coli, bolores e leveduras e pesquisa de Salmonella spp. em formulações de isotônicos. ....	98
<b>Tabela 22.</b> Equações estimadas e coeficientes de determinação (R <sup>2</sup> ) para os atributos sensoriais do teste de aceitação das formulações de isotônicos. ....	99

## RESUMO

SANTOS, M.R.C. **Adição de “mel de cacau” e de pitaya vermelha (*Hylocereus polyrhizus*) em formulações de isotônicos com potencial funcional.** Itapetinga–BA: UESB, 2020. 119 p. Dissertação. (Mestrado em Engenharia e Ciências de Alimentos, Área de Concentração em Ciência de Alimentos). <sup>1</sup>

Os isotônicos são especialmente elaborados para promover a reidratação durante ou após a prática de exercícios físicos de alta intensidade e, tradicionalmente, são elaborados com aromatizantes e corantes sintéticos. Objetivou-se com esse estudo desenvolver formulações de isotônicos antioxidantes a base de “mel de cacau” e extratos hidroetanólicos concentrados de casca (EH\_C) e polpa (EH\_P) de pitaya vermelha, destinada a praticantes de atividade física. Determinou-se na casca de pitaya vermelha as análises de antinutrientes (fitatos, oxalatos, nitratos e saponinas) e citotoxicidade. Com o “mel de cacau”, EH\_C e EH\_P, e as formulações dos isotônicos, foram realizadas as análises físico-químicas (pH, acidez titulável, sólidos solúveis totais), composição nutricional (açúcares totais, proteína, lipídeos, minerais). Sequencialmente, as determinações químicas (betalainas, fenólicos totais, flavonoides totais e osmolaridade) e a capacidade antioxidante (DPPH, poder redutor do íon ferro, oxidação acoplada  $\beta$ -caroteno e ácido linoleico, degradação da 2-desoxi-D-ribose). Para a estabilidade, utilizou-se como marcadores, as coordenadas de cor CieLab, fenólicos totais, betalainas e análise microbiológica. Realizou-se a análise sensorial com possíveis consumidores de isotônicos. O “mel de cacau” se destacou por apresentar expressivos teores de açúcares redutores e de potássio, que contribuíram para os valores da osmolaridade adequados das formulações. As formulações de isotônicos apresentam expressiva capacidade antioxidante, com destaque para os ensaios DPPH e oxidação acoplada  $\beta$ -caroteno e ácido linoleico. As formulações armazenadas por 30 dias a 4 °C apresentaram-se mais estáveis. Os provadores dos isotônicos indicaram que a doçura se apresenta ideal para o consumo. A adição da pitaya vermelha revelou uma cor mais atrativa para o consumo dos isotônicos sem influenciar no seu sabor. Assim, abre-se um amplo campo de possibilidades para o processamento de isotônicos com características antioxidantes, destinados a atletas, nicho ainda não explorado pela indústria de bebidas.

**Palavras-chave:** cacau, corantes naturais, exercício, açúcar refinado, estabilidade, avaliação sensorial.

---

<sup>1</sup> Orientador: Marcondes Viana da Silva, *DSc.*, UESB; Co-Orientador: Leandro Soares Santos, *DSc.*, UESB.

## ABSTRACT

SANTOS, M.R.C. **Addition of “cocoa honey” and red pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) in isotonic formulations with functional potential.** Itapetinga – BA: UESB, 2020. 119 p. Dissertation (Master in Engineering and Food Sciences, Area of Concentration in Food Science).<sup>1</sup>

Isotonics are specially designed to promote rehydration during or after high intensity exercise and, traditionally, they are processed with flavorings and synthetic dyes. The aim of the study was to develop isotonic formulations of antioxidant isotonics based on “cocoa honey” and concentrated hydroethanolic extracts of red pitaya peel (EH\_PE) and pulp (EH\_PP) destined at physical activity practitioners. The analysis of antinutrients (phytates, oxalates, nitrates and saponins) and cytotoxicity were determined in the pitaya red peel. With “cocoa honey”, EH\_PE and EH\_PP, and the isotonic formulations, physical-chemical analyzes (pH, titratable acidity, total soluble solids), nutritional composition (total sugars, protein, lipids, minerals) were carried out. Sequently, the chemical determinations (betalains, total phenolics, total flavonoids and osmolarity) and the antioxidant capacity (DPPH, iron-reducing power, coupled oxidation  $\beta$ -carotene and linoleic acid, degradation of 2-deoxy-D-ribose). For stability, CieLab color coordinates, total phenolics, betalains and microbiological analysis were used as markers. Sensory analysis was carried out with possible consumers of isotonics. The “cocoa honey” stood out for presenting expressive levels of reducing sugars and potassium, which contributed to the adequate osmolarity values of the formulations. The isotonic formulations have significant antioxidant capacity, with emphasis on the DPPH tests and coupled oxidation  $\beta$ -carotene and linoleic acid. The formulations stored for 30 days at 4 °C were more stable. The isotonic tasters revealed that sweetness was ideal for consumption. The addition of red pitaya revealed a more attractive color for the consumption of isotonics without influencing its flavor. Therefore, a wide field of possibilities opens up for the processing of isotonics with antioxidant characteristics, destined at athletes, a niche not yet explored by the beverage industry.

**Keywords:** cocoa, natural dyes, exercise, refined sugar, stability, sensory evaluation.

---

<sup>1</sup> Advisor: Marcondes Viana da Silva, *DSc.*, UESB; Co-Supervisor: Leandro Soares Santos, *DSc.*, UESB.

## 1. INTRODUÇÃO

Os praticantes de atividade física durante e após os exercícios de alta performance, necessitam de estratégias de hidratação adequada para manutenção da homeostase corporal, sendo esta alcançada quando combinada com água, carboidratos, eletrólitos e associados a adequada osmolaridade (ACSM, 2007; SOLLANEK et al., 2019).

O *Codex Alimentarius* (FAO/WHO, 2019) estabelece que os isotônicos são responsáveis por esta reposição de eletrólitos, e por isto, deve apresentar concentração de sódio entre 230 e 920 mg.L<sup>-1</sup>, potássio máximo de 700 mg.L<sup>-1</sup>, osmolaridade compreendida entre 250 a 340 mOsm.kg<sup>-1</sup>, sendo esta similar aos fluidos biológicos, e teor de açúcar variando entre 3 a 10% (m.v<sup>-1</sup>). Assim, os isotônicos são mais recomendados em relação à água, por retardar a fadiga muscular, minimizar o risco de desidratação, aumento da temperatura corporal, o estresse cardiovascular e a hiponatremia (ORRÙ et al., 2018).

Tradicionalmente, os isotônicos disponíveis no mercado são elaborados utilizando corantes e aromatizantes sintéticos. Entretanto, essa prática não é compatível com o estilo de vida dos atletas que vêm incluindo na sua alimentação produtos de fontes naturais (GIRONES-VIPLANA et al., 2016).

Ainda são limitados os estudos que explorem a substituição total dos corantes sintéticos em isotônicos, embora, novas bebidas isotônicas têm sido elaboradas a base de frutas, como o açaí, buriti, tangerina, em função de seus benefícios nutricionais (FONTES et al., 2015; BOVI, PETRUS e PINHO, 2017) e mais recentemente Porfirio et al. (2019) utilizando extrato de polpa e casca de jabuticaba.

Assim, o presente estudo destaca-se por ser o relato primeiro na literatura explorando à elaboração de formulações isotônicos utilizando a substituição parcial do açúcar refinado por “mel de cacau” bem como a adição de extrato da polpa e casca de pitaya vermelha como substituto de corantes sintéticos.

Com este intuito, substituiu-se parcialmente o açúcar refinado pelo “mel de cacau”, exsudato mucilaginoso rico em açúcares e compostos bioativos com destacada capacidade antioxidante, sendo este, liberado da polpa que envolve os grãos de cacau, na etapa que antecede a fermentação destas (LANNES et al., 2013; SILVA et al., 2014).

Nesse contexto, para tornar esta bebida mais atrativa aos consumidores pretendeu-se adicionar extratos hidroetanólicos concentrados de polpa e casca de pitaya vermelha (*Hylocereus polyrhizus*), por ser fonte natural da betalaina, pigmento de coloração vermelho-púrpura, de sabor suave que não interfere no flavor do isotônico. Ademais, é estável a variações de pH e temperatura, além de ter propriedades nutracêuticas e atividade biológica, como câncer,

artrite, catarata, doenças neurodegenerativas e cardiovasculares (CAROCHO, MORALES e FERREIRA, 2018).

Constituindo-se assim, uma alternativa em substituição aos corantes sintéticos, considerando que o modo e o tempo de exposição destes estão relacionados com efeitos adversos a saúde humana, com destaque para alergias, hiperatividade, insuficiência renal, hepatotoxicidade, dentre outros. Desse modo, a sua utilização exige controle em todo o mundo (WHO, 2017; REZA et al., 2018).

A partir destes estudos, abre-se um amplo campo de investigações para novas formulações de isotônicos com substituição parcial de açúcar refinado destinados a atletas, nicho ainda não explorado pela indústria de bebidas e certamente servirá de aporte científico para futuros estudos.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. Isotônicos: visão geral

Isotônicos, de acordo a Instrução Normativa nº 28/2018 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), são suplementos alimentares que auxiliam na manutenção do equilíbrio de fluidos e eletrólitos e no desempenho de exercícios físicos de resistência (BRASIL, 2018).

Os isotônicos devem ser constituídos a partir da concentração variada de eletrólitos (minerais como cloreto, cálcio, magnésio, sódio e potássio), associada a concentrações distintas de carboidratos, podendo conter, opcionalmente, vitaminas e/ou minerais em concentrações semelhantes às encontradas nos fluidos orgânicos (BRASIL, 2010; RAIZEL et al., 2019). De acordo o *Codex Alimentarius* (FAO/WHO, 2019), os isotônicos, prontos para consumo, devem apresentar osmolaridade de 250 a 340 mOsm.kg<sup>-1</sup>, concentração de sódio entre 230 e 920 mg.L<sup>-1</sup>, potássio máximo de 700 mg.L<sup>-1</sup>, carboidratos entre 3 a 10% e frutose, até 5%.

Durante a prática de atividade física de longa duração, atletas chegam a perder em média 2 a 3 litros de água e eletrólitos por hora através do suor e urina. Essa eliminação pode resultar em desidratação, hipoglicemia, hipovolemia, hipertermia. Portanto, é necessário que haja uma reposição dos fluidos, com a presença dos eletrólitos na composição de bebidas hidroeletrólíticas que possibilita a rápida recuperação dessas perdas, principalmente o sódio que previne a hiponatremia e promove maior absorção de água. Os carboidratos auxiliam nesse benefício e possibilitam a estabilidade do índice glicêmico no sangue, mantendo as concentrações ideais e poupando o glicogênio muscular e hepático (GERALDINI et al., 2017; SIMULESCU et al., 2018).

O exercício físico intenso, além de promover a desidratação, pode provocar danos à saúde do esportista através de desequilíbrios com o aumento da produção de radicais livres e a diminuição dos agentes antioxidantes, ocasionando lesões musculares, danos celulares e prejudicar o desempenho dos atletas (TAKACS et al., 2015). O sistema de defesa antioxidante tem o objetivo de reduzir e/ou inibir os danos provocados pela ação nociva dos radicais livres, favorecendo a restauração e a reconstituição das estruturas biológicas das células (GRANATO e NUNES, 2016).

Logo, o sistema de defesa antioxidante inadequado pode elevar o estresse oxidativo, que é acompanhado por alterações metabólicas, sendo associado a três mecanismos de produção de radicais livres: aumento na taxa de processos metabólicos aeróbicos; pequenas lesões na restauração da musculatura lesionada; reperfusão isquêmica. As espécies reativas de

oxigênio neutralizadas por antioxidantes podem ter um efeito positivo no desempenho das atividades físicas (DAMIRCHI, ZAREEI e SARIRI, 2015).

No Brasil, observou-se um declínio no volume de produção de bebidas isotônicas nos últimos anos, de 103.581 (volume em 1.000 L) em 2015 para 83.620 (volume em 1.000 L) em 2017. Esta queda na produção está relacionada a redução do consumo per capita, de 0,5 em 2015 para 0,4 litros/habitante/ano em 2017 (ABIR, 2019). Esse cenário justifica-se pelas mudanças no estilo de vida dos atletas que estão dando preferência pela ingestão de produtos mais naturais que proporcionam benefícios a saúde, não apenas saciar a sede.

Os isotônicos comerciais são elaborados utilizando corantes e aromatizantes sintéticos, além de conservantes que são responsáveis pelo sabor básico pouco agradável das bebidas (RAIZEL et al., 2019). Nessa perspectiva, a introdução de polpas, sucos e extratos de frutas e vegetais vêm sendo amplamente utilizado por estudiosos (Tabela 1), numa tentativa de agregar sabor mais agradável à bebida e vantagens nutricionais devido à presença de antioxidantes naturais, podendo minimizar os danos do estresse oxidativo causado pelo exercício intenso (TAKACS et al., 2015; MAIA et al., 2019).

Diante do exposto, a utilização do “mel de cacau” com os extratos da polpa e casca de pitaya vermelha é uma proposta inovadora para a indústria de bebidas, pois além de utilizar os frutos como fontes de compostos bioativos, apresenta-se novas formulações com reduzido teor de açúcar refinado.

**Tabela 1.** Estudos que incorporaram extratos de frutas e vegetais em isotônicos disponíveis na literatura no período de 2011 a 2019.

<b>Extrato de frutas e vegetais</b>	<b>Objetivo</b>	<b>Principais conclusões</b>	<b>Referências</b>
Laranja, maracujá e melancia Hortaliças (alface, hortelã, espinafre, rúcula, abobrinha, cenoura, inhame, pepino)	Analisar a qualidade sensorial, microbiológica e a estabilidade da fração de carboidratos de uma polpa isotônica natural produzida a partir do suco de frutas e hortaliças.	A bebida isotônica apresentou boa estabilidade microbiológica e físico-química durante o congelamento por 30 dias, além de apresenta boa aceitação sensorial.	Martins et al., 2011
Limão, sabugueiro e uva	Produzir novas bebidas ricas em polifenóis, combinando suco de limão com fontes de cores naturais, ricas em compostos bioativos como o concentrado de uva ou sabugueiro ( <i>Sambucus nigra L.</i> ).	A bebida do suco de limão e sabugueiro apresentou melhor resultado que a combinação limão e uva, com maior retenção de cor e maior atividade antioxidante, também preservada durante o armazenamento. A adição de concentrados de frutas vermelhas ao suco de limão foi observada para proteger o conteúdo de vitamina C, mantendo as propriedades benéficas do produto durante a vida útil.	González-Molina et al., 2012
Limão e maqui berry	Elaborar novas bebidas isotônicas com diferentes frutas para avaliar a	As bebidas apresentaram fitoquímicos bioativos contribuindo	Gironés-Vilaplana et al., 2012

	qualidade e atividade biológica desses ingredientes funcionais.	para a elevada capacidade antioxidante. A cor das bebidas foi bem preservada durante 70 dias, especialmente a 4 °C.	
Tangerina	Elaborar bebidas isotônicas orgânica de tangerina com teor reduzido de aditivos e de agrotóxico.	As bebidas apresentaram níveis adequados de sólidos solúveis, acidez e pH, assim como nos resultados microbiológicos. Realizou-se testes sensoriais e a bebida com maior teor de suco de tangerina foi apontada a preferida dos consumidores.	Santos et al., 2013
Limão, açai e maqui berry	Elaborar novas bebidas isotônicas com diferentes frutas para avaliar a qualidade e atividade biológica desses ingredientes funcionais.	As novas bebidas isotônicas fontes de antocianinas mostraram uma cor atraente, especialmente em amostras de maqui, com maior aceitação pelo consumidor. Apresentaram efeitos antioxidantes e biológicos significativamente mais altos em comparação com as bebidas isotônicas comerciais.	Gironés-Vilaplana et al., 2013
Limão e maqui berry	Elaborar bebida isotônica com suco de limão e maqui berry e	Verificou-se que os tratamentos térmicos (leve e severo) utilizados	Girones-Vilaplana et al., 2016

	<p>avaliar o efeito de diferentes tratamentos térmicos na estabilidade da antocianina, capacidade antioxidante, cor e segurança microbiológica, por 56 dias submetida às temperaturas de 7 e 37 °C.</p>	<p>não afetaram drasticamente o conteúdo e a retenção de antocianinas nem a capacidade antioxidante das bebidas isotônicas. Embora, a cor tenha sido alterada após aquecimento, as bebidas permaneceram com coloração atraente o período de armazenamento.</p>	
<p>Água de coco</p>	<p>Desenvolver bebidas isotônicas para matar a sede de homens e mulheres esportistas, alterando a composição natural da água de coco rei (<i>Cocos nucifera aurantiaca</i>) adicionando a vitamina C (antioxidante) e sorbato de potássio (conservante).</p>	<p>Duas bebidas isotônicas apresentaram osmolaridade (289 e 292 mOsm.kg<sup>-1</sup>) dentro da legislação. O produto com 289 mOsm.kg<sup>-1</sup> apresentou melhor aceitação e características de carboidratos (5,4%) e eletrólitos (20 mmol.L<sup>-1</sup> de sódio, 24 mmol.L<sup>-1</sup> de potássio) de acordo ao estabelecidos pela legislação. A bebida permaneceu estável microbiologicamente sob dois meses de observação sob condições de refrigeração.</p>	<p>Marapana, Chandrasekara e Aponso, 2017</p>
<p>Buriti e tangerina</p>	<p>Produzir, caracterizar e avaliar a estabilidade de nanoemulsões</p>	<p>As formulações mostram-se estáveis sob refrigeração por 60 dias em</p>	<p>Bovi, Petrus e Pinho, 2017</p>

	contendo óleo de buriti para posterior incorporação em bebidas esportivas isotônicas como corante natural em substituição do corante sintético, amarelo crepúsculo.	relação a cor. Apresentaram níveis adequados de pH, acidez e sólidos solúveis até 38 dias, não houve separação de fases e estavam em conformidade de acordo as análises microbiológicas.	
Casca de jabuticaba	Elaborar uma bebida com características hidroeletrólítica à base do permeado obtido do processo da ultrafiltração do leite com adição do corante natural de antocianina extraído da casca da jabuticaba.	A bebida apresentou valores elevados de antocianinas e polifenólicos totais que contribuíram para sua capacidade antioxidante (ABTS e DPPH) e a utilização de corantes naturais como antocianina, além de conferir cor ao produto, pode trazer benefícios à saúde.	Ferreira et al., 2018
Soja	Incorporar em uma bebida isotônica o microencapsulado de isoflavonas da soja.	A microencapsulação aumentou a biodisponibilidade das isoflavonas no trato gastrointestinal e apresentou capacidade de neutralizar os radicais livres (ABTS).	Wyspiańska et al., 2019
Casca de jabuticaba	Analisar a eficácia do consumo de uma bebida feita com ultrafiltração de soro de leite permeia com o	O consumo da bebida hidroeletrólítica à base de permeado de soro de leite com HB demonstrou	Ferreira et al., 2019

	extrato fenólico da casca de jabuticaba (HB) para o controle dos marcadores de estresse oxidativo e dano muscular em jogadores de futebol.	proteger as células dos danos causados pelo estresse oxidativo, sugerido pelo aumento dos níveis de glutathione s-transferase e pelos resultados da capacidade antioxidante (ABTS e DPPH).	
Casca e polpa de jabuticaba	Desenvolver formulações de bebidas isotônicas com extratos hidroetanólicos concentrados da jabuticaba com potencial antioxidante.	As bebidas isotônicas são fontes ricas de antocianinas, apresentaram constituintes fenólicos com potencial antioxidante. As formulações permaneceram mais estáveis ao armazenamento em 4 °C por 90 dias, sem alterar cor, teor de antocianinas e estavam em conformidade às análises microbiológicas.	Porfirio et al., 2019

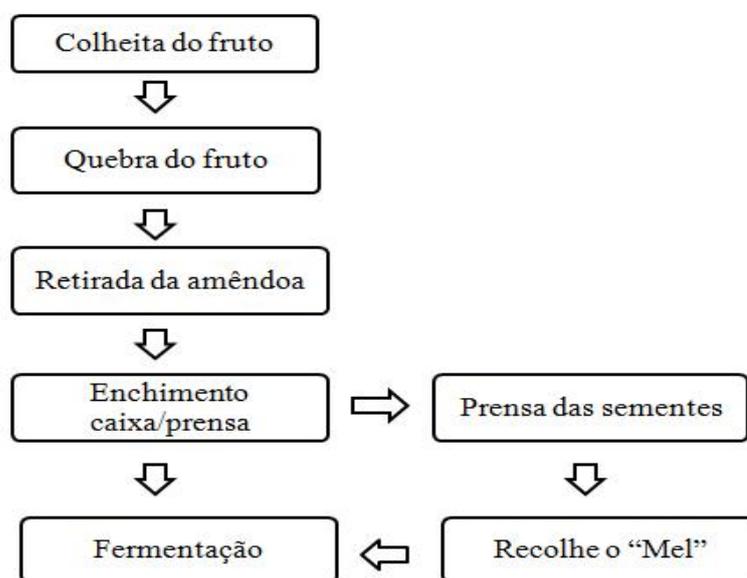
FONTE: Dados autor (2020).

## 2.2. “Mel de cacau”: coproduto do cacau

### 2.2.1. Conceituação

O “mel de cacau” é um exsudato mucilaginoso liberado da polpa que envolve os grãos de cacau, na etapa que antecede a fermentação das amêndoas, resultante da prensagem feita por caixas de prensa ou prensas comuns em até 24 horas após a colheita dos frutos (LANNES, et al., 2013). É caracterizado por um líquido viscoso, de sabor doce e levemente ácido, extraído de acordo com o fluxograma apresentado na Figura 1.

**Figura 1.** Fluxograma do processo de extração do "mel de cacau".



FONTE: Lannes et al. (2013) com adaptações.

Durante esse processo de extração, os grãos de cacau frescos são prensados usando trituradores mecânicos, que podem remover até 10% do peso das sementes frescas sem afetar o processo de fermentação do cacau. Para evitar qualquer tipo de contaminação, o fruto do cacau deve ser higienicamente coletado no momento da quebra, e após essa etapa, o “mel de cacau” necessita ser pasteurizado, envasado e refrigerado (FIGUEROA, GARCÍA e VEGA, 2019).

O “mel de cacau” ainda é pouco explorado na indústria, por ser um produto típico da Bahia, no entanto, é um substrato rico em nutrientes e pode ser aproveitado tecnologicamente. O seu uso como matéria-prima é vantajoso porque, comparado com outras frutas tropicais potencialmente úteis, o cacau é um produto abundante derivado de uma cultura já estabelecida.

Assim, alguns estudos demonstram seu potencial para desenvolvimento de produtos por atribuir sabores especiais e atraentes, como sucos, licores, geleias, compotas, bebidas fermentadas, vinagre e outros produtos (NUNES et al., 2017).

### **2.2.2. Composição nutricional e propriedades bioativas**

O “mel de cacau” é composto basicamente por água (74,94 a 87,22% umidade), açúcar (10 a 19%), pectina (0,9 a 2,5%) e ácidos não voláteis (ácido cítrico – 0,77 a 1,52%). Observa-se a presença de fibras solúveis e insolúveis (cerca de 0,7%) e pectina na polpa de cacau conferindo ao produto alta viscosidade, que favorece a sua utilização no desenvolvimento de novas preparações tecnológicas (SILVA et al., 2014; MEERSMAN et al., 2017).

Os parâmetros físico-químicos (Tabela 2) demonstram o baixo pH do “mel de cacau”, de 2,76 a 3,75, com acidez titulável 0,73% expresso em ácido cítrico, e teor de sólidos solúveis totais podendo variar de 11 a 16,17 °Brix. Essas características, segundo Anvoh, Zoro Bi e Gnakri (2009), estão relacionadas principalmente à presença de vários ácidos orgânicos, ao avaliarem os açúcares e ácidos orgânicos no “mel de cacau” pelo método de cromatografia líquida. Os autores identificaram que os ácidos presentes, o ácido cítrico e acético, conservam a cor e sabor do “mel de cacau”, e relatam que o baixo pH contribui na preservação da qualidade microbiológica desse coproduto, protegendo-o de bactérias não acidófilas.

Vale destacar que essa composição físico-química pode variar de acordo o método de extração do “mel de cacau”, condições climáticas, variedade do cacau e tipo de solo. No entanto, contribuem para a elaboração de novos produtos na indústria e a utilização do processo de pasteurização é suficiente para garantir sua qualidade microbiológica (MELO NETO et al., 2016; FIGUEROA, GARCÍA e VEGA, 2019).

O valor expressivo do teor de sólidos solúveis contribui para quantidade de açúcares, principalmente, o açúcar redutor no “mel de cacau” que contribui para ser um ingrediente funcional. Assim, o aproveitamento do “mel de cacau” é favorável por reduzir ou evitar a adição de açúcar refinado, como tem-se observado na literatura a geleia sem açúcar (SANTOS et al., 2014) e chocolate e gelado comestível com teor reduzido de sacarose (LANNES et al., 2013). Outra vantagem de utilizá-lo é proporcionar mais sabor as formulações dos isotônicos, já que os comerciais apresentam sabor desagradável devido a presença de aromatizantes e conservantes sintéticos (PORFIRIO et al., 2019).

Nesse contexto, ressalta-se a recomendação de sacarose pela Associação Americana de Diabetes (ADA, 2017) entre 25 e 50 gramas por dia, tendo por base uma dieta de 2000 calorias

diárias. A World Health Organization (WHO, 2015) recomenda, aos adultos como às crianças, reduzir a ingestão de açúcares livres para menos de 10% da ingestão total de energia, e priorizar a preferência por alimentos de fontes naturais. Ressaltam ainda, que a indústria alimentícia não deve tratar essa redução como sinônimo de um aumento expressivo de edulcorantes e outros aditivos em produtos industrializados.

**Tabela 2.** Composição físico-química e química do "mel de cacau".

<b>Componentes</b>	<b>Teores médios</b>
pH	3,75 ± 0,81
Acidez titulável (mEq.L <sup>-1</sup> )	170 ± 6,28
SST (°Brix)	16,17 ± 0,74
Açúcar total (g.100mL <sup>-1</sup> )	2,90 ± 0,50
Açúcar redutor (g.100mL <sup>-1</sup> )	1,20 ± 0,50
Açúcar não redutor (g.100mL <sup>-1</sup> )	1,70 ± 0,50
Proteína (g.L <sup>-1</sup> )	7,20 ± 0,21
Lipídeos (%)	3,54 ± 0,20
Potássio (mg.L <sup>-1</sup> )	950 ± 6,32
Sódio (mg.L <sup>-1</sup> )	30,50 ± 3,77
Magnésio (mg.L <sup>-1</sup> )	82,50 ± 0,85
Cálcio (mg.L <sup>-1</sup> )	171,50 ± 34,01
Flavonoides totais (µg.mL <sup>-1</sup> )	7,19 ± 0,01

FONTE: Silva et al. (2014); Figueroa, García e Vega (2019).

O “mel de cacau” é considerado uma fonte natural de compostos bioativos, com quantidades apreciáveis de flavonoides totais, que contribuem para a sua capacidade antioxidante (SILVA et al., 2014). Além de apresentar valores crescentes de constituintes fenólicos totais à medida que aumenta a concentração de “mel de cacau” (Tabela 3). Assim, evidencia-se que esse coproduto do cacau apresenta nutrientes funcionais com elevada capacidade antioxidante por inibir a peroxidação lipídica e a lipoxigenase in vitro (BADER-UL-AIN et al., 2019).

Pazzinato e Cardoso (2019) relatam que o cacau é um dos alimentos mais ricos em flavonoides, que contém como principais substâncias os flavanois, subclasse rica em catequinas e epicatequinas, com possível efeito anti-inflamatório, antiplaquetário, antitrombótico, antialérgico e cardioprotetor.

**Tabela 3.** Indicadores dos constituintes fenólicos totais, atividade antioxidante no “mel de cacau”.

<b>Extrato (mg)</b>	<b>Fenólicos totais (mg.100g<sup>-1</sup>)</b>	<b>Capacidade Antioxidante (%)</b>	<b>CE50* (µg.ml<sup>-1</sup>)</b>	<b>DPPH** (g extrato. g<sup>-1</sup>)</b>
20	101,50	66,80		
30	132,90	74,70	64,74	6,34
40	811,80	75,50		
50	1200	85,00		

FONTE: Silva et al. (2014).

NOTA: \*representa a concentração de extrato com 50% de atividade antioxidante. \*\*1,1- difenil-2-picril-hidrazila.

Assim, o consumo de pequenas concentrações do “mel de cacau” é capaz de reduzir ou neutralizar em 50% o radical livre estável 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DDPH) protegendo o sistema biológico contra o efeito nocivo de processos oxidativos, demonstrando a sua capacidade antioxidante.

Desta forma, torna-se viável a utilização do "mel de cacau" em formulações de novas bebidas funcionais por agregar vantagens tecnológicas e nutricionais, sendo uma alternativa promissora como substituto parcial do açúcar refinado, pois é crescente a demanda da indústria em produtos mais saudáveis.

### **2.3. Pitaya Vermelha (*Hylocereus polyrhizus*)**

#### **2.3.1 Aspectos gerais**

A pitaya vermelha (*Hylocereus polyrhizus*) pertencente à família Cactaceae (Figura 2), tem atraído atenção em estudos recentes por ser rica em compostos bioativos e ter elevado valor econômico (LI et al., 2017). É um fruto tropical, nativo do México e das Américas Central e do Sul, e seu cultivo tem aumentado no Brasil devido às suas propriedades nutricionais e organolépticas (ORTIZ e TAKAHASHI, 2015).

Popularmente a pitaya é conhecida como “fruta do dragão”, devido ao seu formato e à sua pele brilhante coberta de “escamas”. Já foram identificadas pelo menos 14 espécies de pitaya, de diferentes cores de polpa e casca. Entretanto, o foco desse estudo é a pitaya de polpa vermelha e casca vermelha, que tem formato oval e peso entre 300 e 600 gramas, apresentando uma polpa com pequenas sementes pretas que representa 60 a 80% do peso total do fruto maduro (TSAI et al., 2019).

**Figura 2.** Ilustração dos frutos da pitaya vermelha.



FONTE: Dados autor (2020).

A fruta rústica vem apresentando aceitação crescente nos mercados consumidores. Seu cultivo é considerado promissor devido sua aparência exótica, sabor doce e suave, polpa firme e suas características nutricionais e funcionais, além disso, apresenta alto valor comercial, o que vem despertando o interesse de cultivo por fruticultores no Brasil por ser uma fruta de fácil adaptação aos períodos longos de seca (SANTOS et al., 2019).

No Brasil, ainda são pequenas as áreas de produção da fruta, estando localizadas principalmente na região Sudeste, onde a produção dos frutos ocorre durante os meses de dezembro a maio. No estado do Ceará e Pará as plantas produzem frutos o ano inteiro, com pequeno decréscimo nos meses mais chuvosos, que geralmente vão de janeiro a abril. A colheita da pitaya geralmente ocorre quando a fruta atinge a maturidade completa, ou seja, 30 a 40 dias após a floração, na qual a casca adquire coloração rosa a vermelha profunda e uma textura de polpa ainda firme (JERONIMO, ORSINE e NOVAES, 2017).

A durabilidade do fruto é menor do que 10 dias em temperatura ambiente, mas se armazenado sob refrigeração (em torno de 5 °C) pode ter uma validade de 25 a 30 dias. Contudo, a fim de aumentar sua aplicação, disponibilidade e vida útil pode passar por vários tipos de processos, como congelamento, desidratação, concentração, fermentação, tratamentos térmicos e conservação química (MAGALHÃES et al., 2019).

### **2.3.2. Caracterização geral e propriedades bioativas**

As características químicas e físico-químicas (Tabela 4) das frutas variam de acordo com a diversidade dos frutos, local de produção, condições climáticas, estágio de maturação e

época de colheita, entre outros fatores. Geralmente elas são utilizadas na avaliação da qualidade dos frutos, consideram-se as mais comuns os teores de sólidos solúveis, pH, acidez titulável, açúcares redutores e totais, pigmentos e compostos fenólicos (PRASAD, JACOB e SIDDIQUI, 2018).

**Tabela 4.** Composição físico-química da pitaya vermelha (*Hylocereus polyrhizus*).

Variáveis	Casca	Polpa
pH	4,40 ± 0,01	4,88 ± 0,02
Sólidos solúveis (°Brix)	2,16 ± 0,41*	9,97 ± 0,06
Acidez titulável (% ácido málico)	0,41 ± 0,01	0,33 ± 0,03

FONTE: Santos et al. (2019) e \*Abreu et al. (2012).

O pH dos frutos da pitaya vermelha podem variar de 4,40 a 5,60 (ABREU et al., 2012; CORDEIRO et al., 2015; SANTOS et al., 2019). É um componente importante a ser avaliado, pois pode influenciar no tempo de deterioração do fruto, através do desenvolvimento de microrganismos, na atividade das enzimas, na retenção do sabor-odor, na estabilidade de corantes artificiais em produtos de frutas na indústria e na escolha de aditivos e conservantes (LIMA et al., 2013).

A acidez titulável também influencia na cor, sabor, odor e na qualidade das frutas. As pitayas frescas apresentam, em geral, baixos valores de acidez total (2,4 a 3,4%). Santos et al. (2019) encontraram valores baixos para a casca (0,41% expresso em ac. málico) e polpa (0,33% expresso em ac. málico) da pitaya vermelha, podendo ser influenciados pelas condições do armazenamento. Estudos revelam que pode ocorrer declínio no teor da acidez titulável durante o armazenamento, simultaneamente à mudança da coloração da casca, que, dependendo das condições de estocagem, pode ter comportamento acelerado decorrente dos processos metabólicos e fisiológicos, que o utilizam como fonte de energia (MENEZES et al., 2015; HUA et al., 2018).

O teor de sólidos solúveis totais na casca (2,16 °Brix) e polpa (9,97 °Brix) da pitaya vermelha, podendo variar de 13 a 16% conforme encontrado em diferentes espécies de pitayas cultivadas no Brasil (ABREU et al., 2012; CORDEIRO et al., 2015; SANTOS et al., 2019). Os valores de sólidos solúveis variam com a espécie, cultivares, estágio de maturação e clima, além de indicar a quantidade de açúcares existentes no fruto de forma mais representativa (PRASAD, JACOB e SIDDIQUI, 2018).

A composição centesimal representa importantes informações a respeito do valor nutricional do produto e sua possível inclusão na dieta. Utpott et al. (2018) ao caracterizarem a pitaya vermelha produzidas no Rio Grande do Sul, Brasil (Tabela 5), destacam o seu elevado teor de umidade, baixo valor energético e boa fonte de fibra alimentar, podendo contribuir para uma dieta equilibrada. Esses valores corroboram com os resultados de Santos et al. (2019), que também caracterizaram a pitaya vermelha produzidas no estado do Ceará, Brasil.

**Tabela 5.** Composição nutricional de casca e polpa de pitaya vermelha em base úmida (%).

<b>Constituintes</b>	<b>Casca</b>	<b>Polpa</b>
Umidade	92,73 ± 0,09	86,82 ± 0,07
Proteína	0,46 ± 0,10	1,75 ± 0,06
Lipídios	0,12 ± 0,02	0,87 ± 0,01
Carboidratos	0,72 ± 0,15	5,50 ± 0,36
Fibra alimentar	4,47 ± 0,13	4,21 ± 0,25
Cinzas	1,54 ± 0,00	0,89 ± 0,01
Energia (kcal)	5,65 ± 0,97	36,41 ± 1,00

Fonte: Utpott et al. (2018).

De acordo Utpott et al. (2018), a umidade é uma das análises mais utilizadas por estar relacionada à estabilidade e qualidade do produto, podendo ser afetada pelo armazenamento, embalagem e processamento. A casca e polpa apresentaram valores 92,73 e 86,82%, respectivamente, corroborando com os resultados encontrados em diferentes espécies de pitaya, variando de 83,60 a 89,00% (CORDEIRO et al., 2015; SANTOS et al., 2019).

O teor de proteínas na casca (0,46%) e polpa (1,75%) foram baixos, estando dentro dos valores de 0,3 a 2,27%, geralmente encontrados em pitaya vermelha (ABREU et al., 2012). As proteínas desempenham papel fundamental na estrutura e função das células. Funcionam como biocatalisadores (enzimas e hormônios), controlando processos como crescimento, digestão, absorção, transporte e metabolismo (VILAS BOAS, 2002).

Os açúcares constituem a maior parte dos sólidos solúveis em forma de glicose, frutose e sacarose, na pitaya vermelha os valores de açúcares totais são baixos (0,72% para casca e 5,50% para polpa). Essa é uma característica desejável tanto para a agroindústria quanto para o para consumo in natura, por propiciarem maior rendimento no processamento e por proporcionar maior percepção de sabor agradável (CORDEIRO et al., 2015).

Apesar da polpa apresentar maior valor calórico devido ao teor de carboidratos presentes, o fruto ainda é considerado de baixo valor energético quando comparado ao abacaxi,

açaí, goiaba, maçã e pêssego, por exemplo (UTPOTT et al., 2018). Contém poucos lipídios (casca 0,12% e polpa 0,87%) e juntamente com outros alimentos, podem auxiliar para uma dieta equilibrada nutricionalmente.

Em relação aos teores de cinzas, a casca possui maior percentual quando comparado à polpa, sendo que valores a partir de 0,7% são indicativos de um conteúdo mineral útil para a melhoria da saúde humana (UTPOTT et al., 2018). Os minerais estão diretamente relacionados ao estado de saúde e doença nos seres vivos, já que sua deficiência ou excesso pode provocar mudanças fisiológicas importantes para o organismo (AGUIAR et al., 2011). De acordo com Le Bellec (2006), a pitaya vermelha apresenta conteúdo relativamente alto de potássio ( $12,6 \text{ g.kg}^{-1}$ ), seguido de magnésio e cálcio (8,0 a  $23 \text{ g.kg}^{-1}$ ). Quanto aos micronutrientes, destacam-se o ferro ( $337,58 \text{ mg.kg}^{-1}$ ), o zinco ( $116,26 \text{ mg.kg}^{-1}$ ) e o manganês ( $113,93 \text{ mg.kg}^{-1}$ ).

Vale ressaltar os diversos estudos (Tabela 6) que destacam a quantidade de compostos bioativos presentes na casca e polpa da pitaya vermelha, da espécie *Hylocereus polyrhizus*, principalmente pigmentos e compostos fenólicos, geralmente relacionado com a defesa do vegetal, mas nos seres humanos desempenham um importante papel de proteção como agentes antioxidantes.

O fruto possui altas quantidades de polifenóis e antioxidantes, que podem oferecer proteção contra algumas doenças crônicas causadas pelo estresse oxidativo, tais como distúrbios cardiovasculares e diferentes tipos de câncer (TENORE, NOVELLINO e BASILE, 2012).

**Tabela 6.** Estudos que determinaram a presença dos compostos bioativos na pitaya vermelha (*Hylocereus polyrhizus*), período de 2010 a 2019.

<b>Título</b>	<b>Objetivo</b>	<b>Métodos utilizados</b>	<b>Principais resultados</b>	<b>Referências</b>
Identificação de pigmentos e propriedades antioxidantes de frutos de dragão vermelho ( <i>Hylocereus polyrhizus</i> )	Identificar pigmentos presentes em <i>Hylocereus polyrhizus</i> e investigar melhor as suas propriedades antioxidantes.	Betanina (HPLC), fenólicos e flavonoides totais, poder redutor do ferro, DPPH.	A análise de HPLC qualificou com êxito um pico da betanina. A fruta do dragão representou uma fonte significativa de antioxidantes.	Rebecca, Boyce e Chandran (2010)
Atividades comparativas de antioxidantes e antiproliferativos da Pitaya vermelha e branca e sua correlação com o conteúdo de flavonoides e polifenóis	Investigar a atividade antioxidante de polifenóis totais e flavonoides de polpas e cascas de pitaya branca e vermelha de origem coreana; Avaliar o efeito antiproliferativo em várias linhas de células cancerígenas de extratos de polpa e casca de pitayas.	Fenólicos totais, flavonoides totais, HPLC e atividade antioxidante, (DPPH e ABTS).	Identificaram maior conteúdo de flavonoides e polifenóis no extrato metanólico da casca em relação a polpa. Ambos os extratos de casca também mostraram uma atividade antiproliferativa mais forte contra as células cancerígenas. Houve correlação direta entre o conteúdo fenólico e o efeito antioxidante, mas não foi observada correlação entre a atividade antioxidante e a atividade antiproliferativa.	Kim et al. (2011)
Propriedades antioxidantes de duas espécies de frutos de	Investigar as propriedades antioxidantes das frutas (casca	Ácido ascórbico, fenólicos totais, DPPH, atividade	Ambas espécies de <i>Hylocereus</i> tem capacidade antioxidantes	Choo e Yong (2011)

<i>Hylocereus</i>	e polpa) de <i>H. polyrhizus</i> e <i>H. undatus</i> .	quelante de íons ferrosos.	devido a presença dos ácidos fenólicos e ascórbicos. Considerando a atividade de eliminação de radicais livres e a atividade quelante de íons ferrosos, a polpa de <i>H. undatus</i> apresentou as maiores propriedades antioxidantes.	
Características físico-químicas e atividade antioxidante total de pitaias vermelha e branca	Avaliar as características físico-químicas e a atividade antioxidante total da casca e da polpa das pitaias vermelha e branca.	Teor de vitamina C, fenólicos totais, DPPH, sistema $\beta$ -caroteno/ácido linoleico.	As pitaias analisadas mostraram alta atividade antioxidante pela metodologia de sistema betacaroteno/ácido linoleico e baixa atividade pela técnica de DPPH.	Abreu et al. (2012)
Determinação de compostos bioativos em líquidos fermentados de frutos de dragão ( <i>Hylocereus polyrhizus</i> )	Determinar os compostos bioativos presentes no líquido fermentado do fruto do dragão vermelho, com e sem tratamento de pasteurização.	Betacianinas e ácido acético (HPLC), fitoesteróis (cromatografia gasosa), fenólicos, flavonoides e flavonóis totais, ABTS.	O efeito da pasteurização sugeriu possíveis efeitos benéficos na concentração de compostos bioativos, pois apresentou quantidades significativamente maiores de fitoesteróis (campesterol, estigmasterol, $\beta$ -sitosterol), betacianinas, ácidos	Foong, Hon e Ho (2012)

			acéticos, conteúdo fenólico total, teor total de flavonóides e ensaio total de flavanol, bem como maior capacidade de eliminação de radicais no ensaio ABTS.	
Potencial nutracêutico e benefícios antioxidantes de extratos de pitaya vermelha ( <i>Hylocereus polyrhizus</i> )	Investigar o perfil fitoquímico, a atividade antioxidante e antimicrobiana de extratos e frações da polpa e casca de pitaya vermelha.	Betacianina, fenólicos e flavonoides totais, frações de polifenólicos (HPLC), DPPH, poder de redução do ferro (FRAP).	As frações de betacianina exibiram as maiores capacidades de redução e eliminação de radicais entre os extratos e frações testados pelos ensaios FRAP e DPPH, respectivamente. As frações polifenólicas da polpa e das cascas mostraram um amplo espectro antimicrobiano inibindo o crescimento de todos os patógenos de origem alimentar testados, incluindo leveduras e bolores.	Tenore, Novellino e Basile (2012)
Influência da extração convencional e assistida por ultrassom no conteúdo fenólico, no conteúdo de betacianina e na	Investigar a influência da extração convencional e assistida por ultrassom, na capacidade antioxidante da	Betacianina, fenólicos e flavonoides totais, ABTS, poder de redução do ferro (FRAP).	O método de extração assistida por ultrassom aumentou o conteúdo de flavonoides e a atividade de eliminação do	Ramli, Ismail e Rahmat (2014)

<p>capacidade antioxidante do fruto do dragão vermelho (<i>Hylocereus polyrhizus</i>)</p>	<p>casca e da polpa do dragão vermelho.</p>		<p>radical ABTS da casca de pitaya. A atividade de eliminação e o poder redutor foram altamente correlacionados com compostos fenólicos e flavonoides. Por outro lado, a atividade de eliminação e o poder de redução estavam fracamente correlacionados com o teor de betacianina.</p>	
<p>Avaliação das propriedades antioxidantes e cicatrizantes de extratos de diferentes partes de <i>Hylocereus polyrhizus</i></p>	<p>Avaliar a potencial aplicação dos resíduos agrícolas de <i>H. polyrhizus</i>, o caule, a casca e a flor, extraídos com soluções de etanol-água de diferentes concentrações; Avaliar as habilidades desses extratos na proteção contra danos ao DNA e migração celular; Correlacionar os componentes ativos e as propriedades biológicas desses resíduos.</p>	<p>Fenólicos totais, flavonoides totais e atividade antioxidante, (DPPH e ABTS)</p>	<p>Extratos do caule de <i>H. polyrhizus</i> apresentaram excelente atividade de eliminação de radicais DPPH e ABTS. Os extratos de caule, casca e flor em etanol aquoso a 95% mostraram excelentes efeitos de proteção contra danos ao DNA. Esses resíduos são fontes de polifenólicos antioxidantes e têm aplicações potenciais nas indústrias farmacêutica, cosmética e alimentícia.</p>	<p>Tsai et al. (2019)</p>

FONTE: Próprio autor (2020).

Vale destacar o estudo pioneiro realizado por Wu et al. (2006) que avaliaram a presença de compostos fenólicos e a atividade antioxidante da polpa e da casca de pitaya vermelha (Tabela 7).

**Tabela 7.** Caracterização química da pitaya vermelha.

<b>Componentes</b>	<b>Polpa</b>	<b>Casca</b>
Fenólicos totais (mg.100mL <sup>-1</sup> )	4,55 ± 0,03	25,4 ± 2,10
Betanina (mg.100mL <sup>-1</sup> )	10,30 ± 0,22	13,80 ± 0,85
Flavonoides totais (mg.100mL <sup>-1</sup> )	7,21 ± 0,02	8,33 ± 0,11

FONTE: Wu et al., 2006.

Na pitaya vermelha, os constituintes fenólicos podem variar de acordo a condição ambiental e/ou diferença de fase de maturação dos frutos, do tipo da espécie e das condições de armazenamento, decorrente de processos bioquímicos e de degradação (SANTOS et al., 2016).

Assim, Wu et al. (2006) encontraram na pitaya vermelha proveniente do Taiwan, fenólicos totais com resultados expressos em ácido gálico na polpa (4,55 mg.100mL<sup>-1</sup>) e casca (25,40 mg.100mL<sup>-1</sup>). Para o conteúdo de flavonoides, observaram-se valores, expressos em catequina, 7,21 mg.100mL<sup>-1</sup> para a polpa e 8,33 mg.100mL<sup>-1</sup> para a casca. Tsai et al. (2019) avaliaram o fruto oriundo também do Taiwan, encontrando 5,59 µg de ácido gálico.mg<sup>-1</sup> de extrato da casca, e quanto aos flavonoides, observaram valor de 0,34 µg equivalente de quercetina.mg<sup>-1</sup> de extrato.

O conteúdo de fenólico total pode ser atribuído também aos pigmentos encontrados em cactos *Hylocereus* devido a uma estrutura fenol na molécula. A sua coloração vermelho-púrpura é atribuída à presença de betalainas, pigmento solúvel em água que proporciona cores vermelhas e amarelas à grande variedade de flores e frutos responsáveis pela sua coloração (WU et al., 2006; GARCÍA-CRUZ et al., 2016).

Quanto ao conteúdo total de betalaina, Wu et al. (2006) encontraram valores, expressos em betanina, 10,30 mg.100mL<sup>-1</sup> na polpa e 13,80 mg.100mL<sup>-1</sup> na casca de pitaya vermelha, sendo inferiores ao observado por Fathordoobadya et al. (2016). Estes autores ao avaliarem diferentes proporções de extratos hidroetanólicos de pitaya vermelha, obteve-se na extração 70:30 (etanol:água) teores de betacianina 24,81 mg.100mL<sup>-1</sup> para a casca, e 120,28 mg.100mL<sup>-1</sup> para a polpa. Assim, puderam demonstrar à alta propriedade hidrofílica das betacianinas devido à presença de alguns grupos hidroxila (-OH) que levam à polarização de carga e à ligação de hidrogênio, auxiliando na sua extração.

Nesse contexto, Tenore, Novellino e Basile (2012) verificaram que as frações polifenólicas (ácidos fenólicos, flavonoides e betalainas) da polpa e casca da pitaya vermelha

são capazes de inibir patógenos de origem alimentar, como leveduras e bolores, e concluíram que o fruto é boa fonte de antioxidantes. Vale destacar a casca de pitaya vermelha, um subproduto de fabricação a ser explorado, que geralmente é descartada pela indústria de alimentos, correspondendo em torno de 20% da fruta (ALVES, MONTEIRO e POMPEU, 2018).

A partir dos resultados, observa-se que a pitaya vermelha não é apreciada apenas pela sua aparência exótica e cor, mas principalmente por apresentar teores consideráveis de polifenóis. Principalmente a casca de pitaya vermelha por apresentar características antioxidante, podendo atuar como agente antimelanoma (WU et al., 2006).

Assim, observa-se nos últimos anos, que a pitaya ganhou popularidade não apenas pelos seus benefícios potenciais à saúde, mas também por apresentar altos níveis de betalaina, pigmento natural presente nesse fruto. Assim, surge com uma alternativa interessante na indústria de bebidas isotônicas ou produtos relacionados, por não apresentar aroma desagradável (“cheiro de terra”) causado por derivados de geosmina e pirazina, como é observado na beterraba (SANTOS et al, 2019).

Nesse contexto, a atual tendência é incorporar não apenas a polpa da fruta, mas também os resíduos, resultantes do processo industrial. Por este apresentar alto valor econômico agregado no desenvolvimento de novos produtos na indústria alimentícia, e principalmente, pode ser utilizado como corante natural em substituição aos corantes sintéticos.

## **2.4. Corantes alimentícios**

### **2.4.1. Corantes sintéticos e naturais**

Os termos corantes e pigmentos geralmente são confundidos sendo importante a diferenciação entre eles. Ambos são substâncias químicas obtidas a partir de maneira sintéticas ou de fontes naturais, de origem orgânica ou inorgânica, empregadas com o intuito de colorir os substratos, entretanto, diferenciam entre si pelo modo de aplicação em relação à solubilidade. Os corantes são parcialmente ou completamente dissolvidos em um líquido podem ser aplicados diretamente sob diferentes substratos (materiais têxteis, papel, cabelos, couro, entre outros). Já os pigmentos necessitam ser incorporados aos substratos, pois são praticamente insolúveis nos meios nos quais eles são aplicados (ZANONI e YAMANAKA, 2016).

Assim, os corantes são aditivos alimentares definidos como toda substância que confere, intensifica ou restaura a cor de um alimento. A cor é a primeira característica notável de um alimento ou bebida, um dos atributos sensoriais mais importantes para indicar qualidade e

umentar aceitação pelos consumidores. No entanto, alguns alimentos ao serem submetidos ao processamento perdem uma quantidade substancial de cor, sendo necessário restaurar a sua coloração com a adição de corantes sintéticos ou naturais (VINHA et al., 2018).

Os corantes podem ser classificados em 3 tipos diferiram quanto à origem, têm-se os orgânicos naturais extraídos de matérias-primas encontrados na natureza (origem animal ou vegetal), cujo princípio tenha sido isolado com emprego de processo tecnológico adequado. Os corantes caramelo são obtidos a partir do açúcar exposto a temperaturas superiores ao seu ponto de fusão. E por fim os corantes artificiais, sintetizados por processos químicos e não são encontrados na natureza (DIKSHIT e TALLAPRAGADA, 2018).

Atualmente, vários tipos de corantes sintéticos estão disponíveis no mercado para produtos alimentícios. Entretanto, a sua utilização tem sido cada vez mais rejeitada pelos consumidores, que estão conscientes sobre os possíveis aspectos toxicológicos de alguns corantes em relação à saúde, preferindo assim ingredientes naturais no processamento de alimentos (LIN et al., 2018).

Os corantes sintéticos eram utilizados há muito tempo na indústria de alimentos devido ao seu baixo custo e serem mais estáveis à umidade, oxigênio e luz, variações de pH e temperatura. No entanto, o mercado desses corantes tem sofrido declínio desde início do século XXI nos Estados Unidos, com redução da lista de corantes sintéticos permitidos, de 700 para 9 compostos, sendo 2 de uso restrito. Evidências científicas associam essa redução com a ingestão de corantes alimentares sintéticos acima de 50 mg e a possibilidade de surgimento de sintomas alérgicos e hiperatividade em crianças (DOWNHAM e COLLINS, 2000; LIN et al., 2018).

No Brasil, as resoluções nº 382 a 388, de 9 de agosto de 1999, da ANVISA, permitem o uso de onze corantes artificiais para alimentos e bebidas, sendo eles: Amarantho, Vermelho de Eritrosina, Vermelho 40, Ponceau 4R, Amarelo Crepúsculo, Amarelo Tartrazina, Azul de Indigotina, Azul Brilhante, Azorrubina, Verde Rápido e Azul Patente V. Isto ocorreu devido à necessidade de harmonização da legislação entre os países membros do Mercosul para o uso de corantes em alimentos. A Resolução GMC nº 50/98 trata dessa harmonização, bem como a Resolução GMC nº 52/98 que trata dos critérios para determinar funções de aditivos e seus limites máximos para todas as categorias de alimentos (PRADO e GODOY, 2003).

Nos isotônicos, os corantes sintéticos são amplamente utilizados, sendo o ponceau 4R, vermelho 40 e verde rápido permitidos pelo padrão para aditivos alimentares no *Codex Alimentarius* (FAO/WHO, 2019). Entretanto, torna-se interessante substituí-los por corantes naturais devido aos seus possíveis efeitos controversos a saúde.

Nessa perspectiva, é uma tendência utilizar pigmentos na indústria de alimentos provenientes de fontes naturais, como clorofilas, carotenoides (carotenos, xantofilas), betalainas (betaxantina, betacianina) e flavonoides (antocianinas) (PRIATINI e PRADITA, 2015). Estes pigmentos são ingredientes de alto valor nutricional, antimicrobianos e antioxidantes, que permitem aparência desejável e considerados mais seguros, pois são considerados não tóxicos e não carcinogênicos. No entanto, os corantes naturais apresentam algumas desvantagens nas suas propriedades físico-químicas e químicas ao serem submetidos ao processamento de alimentos, pois são sensíveis à oxidação, mudança de pH e luz, e tem custo elevado (VINHA et al., 2018).

As betalainas têm despertado a atenção de pesquisadores, consumidores e da indústria devido ao seu poder tintorial, coloração atrativa, estabilidade e atividade antioxidante. Se diferenciam dos demais pigmentos por serem capazes de se regenerar após tratamento térmico combinada ao ácido ascórbico, são hidrossolúveis e estáveis em uma faixa mais ampla de pH entre 3 e 7 (SLIMEN, NAJAR e ABDERRABBA; 2017; MAHAYOTHEE et al., 2018). Recentemente, tem sido amplamente utilizada para dar cor a sorvetes, bebidas, iogurtes, sobremesas em pó, géis, molhos, doces, geleias (JANISZEWSKA-TURAK, PISARSKA e KRÓLCZYK, 2016).

Nesse contexto, novas tecnologias estão sendo desenvolvidas com o objetivo de valorizar o uso de corantes naturais, preservar suas propriedades em relação a sua estabilidade após processamento na indústria de alimentos, reduzir custos operacionais e impactos na saúde dos consumidores (CAROCHO et al., 2014).

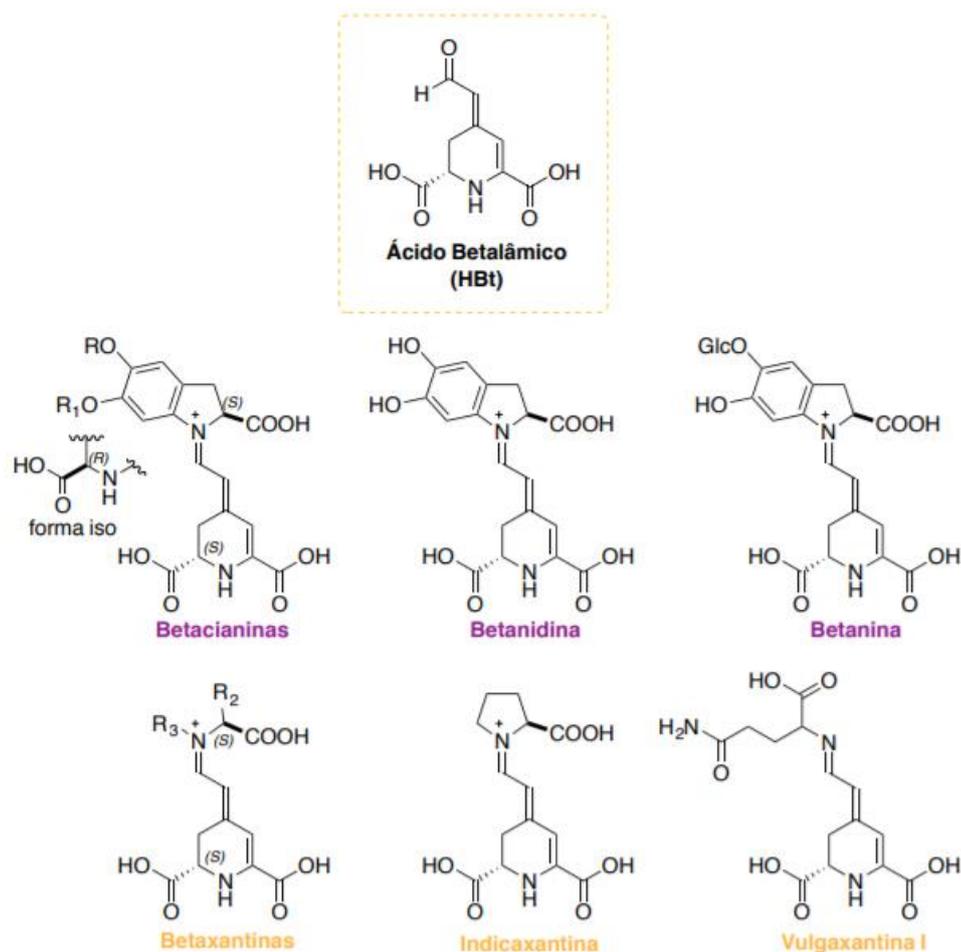
#### **2.4.2. Betalainas: composição química**

As betalainas são pigmentos naturais derivados do indol, compostos por uma estrutura nuclear nitrogenada, denominada ácido betalâmico [ácido 4-(2-oxoetilideno)-1,2,3,4-tetra-hidropiridino-2,6-dicarboxílico]. A condensação do ácido betalâmico com compostos amino ou aminoácidos formam em dois grandes grupos estruturais (Figura 3) como as betacianinas - vermelho ao violeta - e as betaxantinas - amarelo ao laranja (BELHADJ SLIMEN, NAJAR e ABDERRABBA, 2017).

As diferenças estruturais refletem na mudança da aparência dos subgrupos de betalainas. As betacianinas contêm um radical ciclo-3,4-di-hidroxi-fenilalanina (ciclo-Dopa) e têm a betanina como principal composto, já as betaxantinas apresentam um radical amina ou grupo aminoácido e o seu pigmento comumente mais estudado é a indicaxantina. A presença

do anel aromático no radical cicloDopa altera a absorção máxima de radiação visível de 480 nm para betaxantinas e para próximo de 540 nm betacianinas (LEONG et al., 2018).

**Figura 3.** Estrutura química do ácido betalâmico, das duas classes básicas de betalainas, betacianinas (betanidina e betanina) e betaxantinas (indicaxantina e vulgaxantina I).

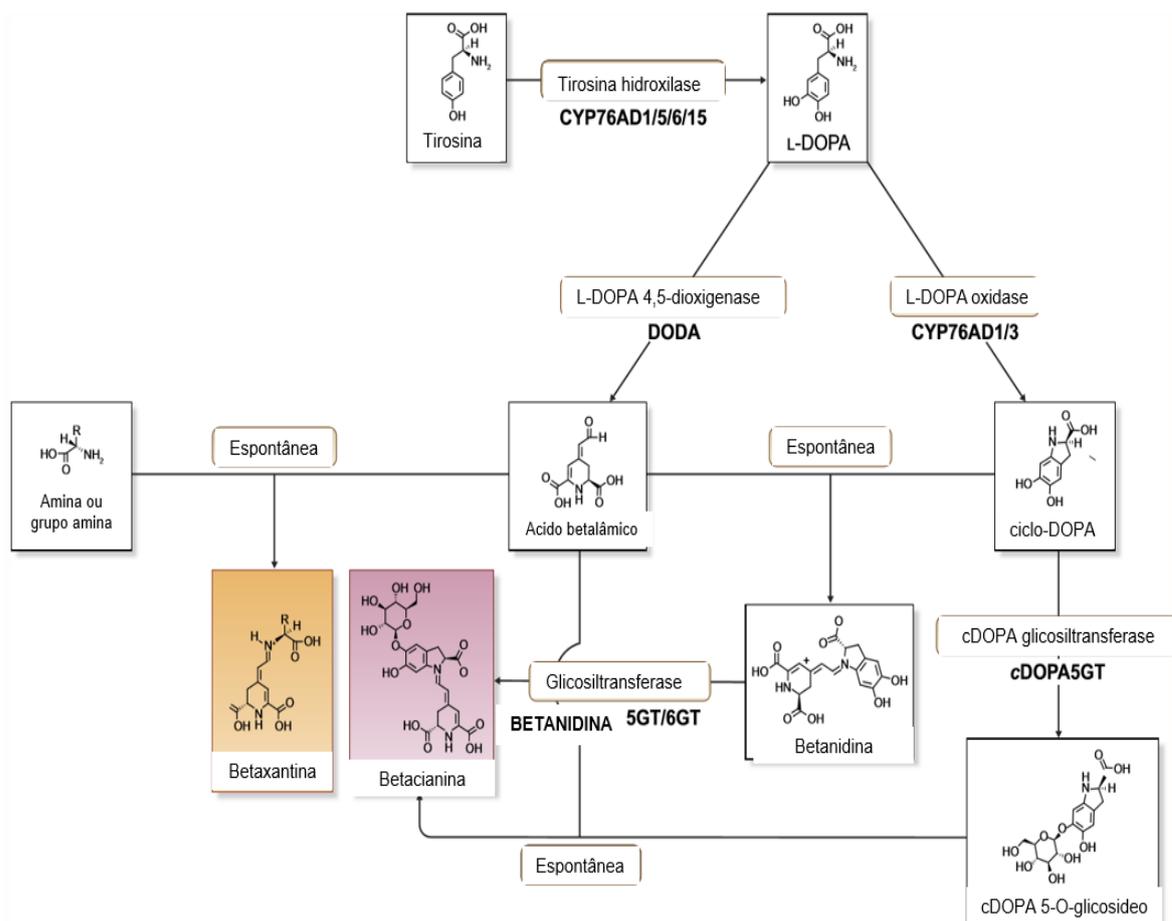


FONTE: Gonçalves et al. (2015).

A biossíntese da betalaina (Figura 4) ocorre em diversas etapas químicas e enzimáticas a partir da L-tirosina. A primeira etapa envolve uma enzima desconhecida com atividade de tirosinase, que converte L-tirosina em L-diidroxifenilalanina (L-DOPA). Em seguida, a enzima DOPA 4,5-dioxigenase (DODA) realiza uma clivagem oxidativa, convertendo L-DOPA em 4,5-seco-DOPA que cicliza espontaneamente dando origem ao ácido betalâmico, o precursor comum de todas as betalainas. O acoplamento aldímínico entre o ácido betalâmico e derivados de ciclo-DOPA resulta em betacianinas vermelhas. Por outro lado, quando o mesmo ácido reage com aminas ou aminoácidos diversos são produzidas betaxantinas que, embora sejam quase

sempre amarelas, podem também ter cor laranja, vermelha ou violeta (TIMONEDA et al., 2019).

**Figura 4.** Biossíntese de betalainas.



FONTE: Timoneda et al. (2019) com adaptações.

Assim, as betalainas podem ser encontradas em algumas espécies de plantas de *Caryophyllale*, como em raízes, frutos e flores e estão localizados principalmente nos vacúolos das plantas. Têm-se como fonte principal a beterraba (*Beta vulgaris*), seguido dos frutos de cactos como do gênero *Opuntia* e pitayas do gênero *Hylocereus* (GÜNEŞER, 2015). Além de sua função de coloração, esses pigmentos naturais exercem diversas atividades biológicas tanto em plantas quanto em seres humanos, o que os tornam mais atrativos para aplicação e consumo (GARCÍA-CRUZ et al., 2016; CELLI e BROOKS, 2017).

As betalainas apresentam propriedades valiosas, como segurança toxicológica, encontrado com abundância, facilmente extraíveis, bioacessibilidade e biodegradabilidade, que incentivaram o desenvolvimento e a aplicação desses pigmentos naturais como ingredientes alimentares. Com base no título 21 do Código de Regulamentos Federais, parte 73.40 da Food

and Drug Administration (FDA) dos EUA, o pó de beterraba com a CEE nº E 162, é considerado um corante permitido, amplamente utilizado na indústria alimentícia, farmacêutica e têxtil (RAHIMI et al. 2018).

Devido à sua natureza hidrofílica, as betalainas podem ser extraídas usando água pré-resfriada ou metanol aquoso. Essa característica favorece a sua aplicação em diferentes alimentos, sendo utilizadas em sobremesas, misturas secas e laticínios, sem provocar um efeito negativo no odor e sabor. Por apresentar sabor suave, a sua utilização torna-se mais propícia como corante, sendo necessário pequenas concentrações do composto puro para obter a tonalidade desejada, raramente excedendo 50 mg/kg, calculada como betanina (AZEREDO, 2009).

Em relação aos benefícios à saúde, as betalainas têm sido utilizadas no tratamento da hiperlipidemia demonstrando que seus efeitos colaterais são isentos de toxicidade, em comparação com drogas sintéticas. As betalainas inibem a oxidação induzida por mieloperoxidase / nitrato das lipoproteínas de baixa densidade humana (LDL), eliminando os radicais lipoperoxila (GENGATHARAN, DYKES e CHOO, 2015). Além disso, esse pigmento tem atraído a atenção devido às suas funções protetoras anti-inflamatórias e hepáticas nas células humanas (SILVA, PAIVA e SILVA, 2019).

Nesse contexto, as betalainas são uma alternativa interessante na indústria alimentícia por ser um potente antioxidante natural, sendo que as betacianinas demonstraram propriedades funcionais como antiinflamatório e efeitos inibitórios sobre a oxidação lipídica, podendo oferecer efeitos promotores de saúde e ser eficazes na proteção contra doenças degenerativas, como câncer, doenças cardiovasculares, diabetes e obesidade (LEONG et al., 2018).

Assim, torna-se relevante o acréscimo da pitaya vermelha ao “mel de cacau” na elaboração da bebida isotônica, como corante natural, por ser um ingrediente funcional que não mascara o sabor desse coproduto, e contribui para obter um produto final com considerável valor nutricional.

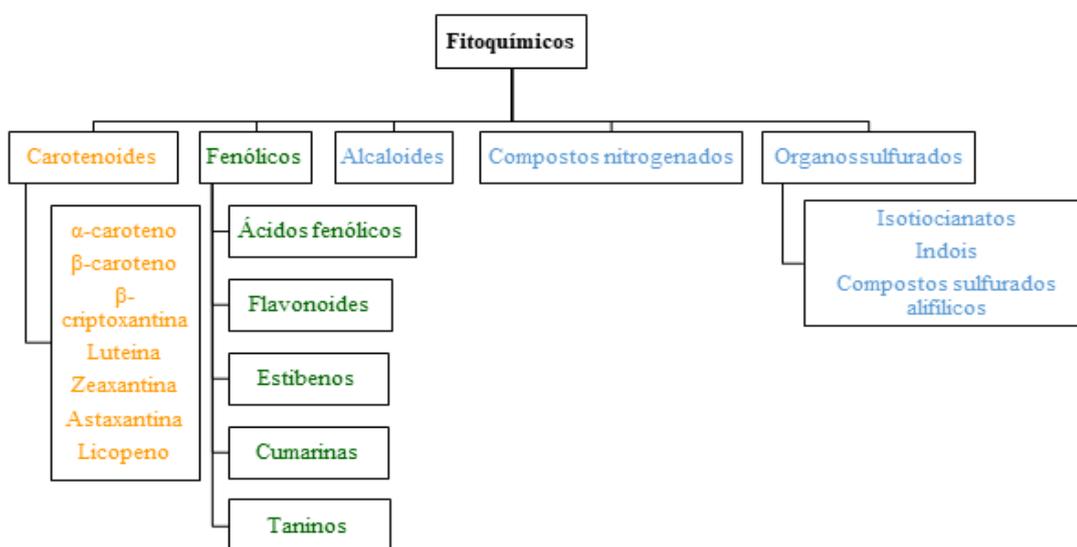
## **2.5. Compostos bioativos**

Compostos bioativos ou fitoquímicos são substâncias ativas presentes naturalmente em plantas, frutas, vegetais e grãos, e em sua maioria são metabólitos secundários, que geralmente, estão relacionados com os sistemas de defesa das plantas contra a radiação ultravioleta ou as agressões de insetos ou patógenos. Nos humanos, conseguem desempenhar um importante papel de proteção como agentes antioxidantes mesmo em baixas concentrações, capazes de

retardar ou inibir as reações de oxidação em cadeia em diversos substratos (LIU, 2013; SCHIASSI et al., 2018).

Essas substâncias variam extensamente em estrutura química e, conseqüentemente, na função biológica, entretanto apresentam algumas características em comum, como serem orgânicos e geralmente de baixo peso molecular. Normalmente, pertencem às classes dos fenólicos, vitaminas, carotenoides e minerais (Figura 5). Esses compostos necessitam ser inseridos diariamente na dieta, pois não são indispensáveis nem sintetizados pelo organismo humano, onde desempenham um papel essencial na prevenção de doenças, o que pode estimular sua utilização pelas indústrias de alimentos no desenvolvimento de novos produtos (SADH et al., 2018; AADIL et al., 2019).

**Figura 5.** Classificação dos fitoquímicos.



FONTE: Liu (2004) com adaptações.

Nesse contexto, evidências científicas têm demonstrado a relação positiva entre o consumo de frutas e vegetais e a diminuição no risco de desenvolver doenças cardiovasculares, diabetes e certos tipos de câncer, estando relacionados ao retardo do envelhecimento e à prevenção de doenças. Essas contribuições são decorrentes à presença de compostos bioativos nesses alimentos que contribuem para sua ação antioxidante, reduzindo o estresse oxidativo (VUOLO, LIMA e MARÓSTICA JUNIOR, 2019).

Desta forma, os antioxidantes são substâncias presentes em diversos alimentos que, em sua maioria, apresentam estrutura química aromática, contendo, no mínimo, uma hidroxila, e podem se apresentar de forma sintética ou natural. Eles atuam protegendo o organismo contra o estresse oxidativo por meio de diferentes mecanismos e modos de ação, muitas vezes independentes de seu efeito antioxidante e seus efeitos podem ser cooperados por vários

mecanismos. O mecanismo de atuação dessas substâncias consiste na complexação de íons metálicos, inativação de radicais livres ou na redução de hiperóxidos para produtos de decomposição (CHANDRASEKARA e SHAHIDI, 2018).

As formas mais comuns de radicais livres, que causam estresse oxidativo imposto pelos reativos de oxigênio (ROS), incluem radical superóxido, peróxido de hidrogênio, radical livre hidroxilo, oxigênio singlete e óxido nítrico, que tem atividades biológicas significativamente elevadas *in vivo* e *in vitro* (VUOLO, LIMA e MARÓSTICA JUNIOR, 2019). Essas espécies reativas de oxigênio estão envolvidas nos danos oxidativos e associadas a muitas doenças que acometem os seres humanos como aterosclerose, doenças cardiovasculares, catarata, diabetes, asma, lesão no fígado, artrite, envelhecimento, doenças de imunodeficiência além de câncer (ZHENG e WANG, 2001).

Sendo assim, para atuar contra os ROS, dois sistemas antioxidantes atuam concomitantemente, estes constituídos por componentes enzimáticos e não enzimáticos. O enzimático é o primeiro a agir, evitando o acúmulo de ânion radical superóxido e de peróxido de hidrogênio (CHITARRA e CHITARRA, 2005). Entretanto, os componentes celulares não são protegidos totalmente por antioxidantes endógenos, tornando os antioxidantes obtidos pela alimentação indispensáveis para a defesa do organismo e manutenção da saúde. Assim, faz necessário incluir frutas na dieta para fornecer antioxidantes exógenos e, conseqüentemente, eliminar o excesso de ROS no corpo (RUFINO et al., 2010).

### **2.5.1. Fenólicos totais**

Os constituintes fenólicos estão entre as mais difundidas classes de metabólitos secundários, que apresentam um anel aromático com, no mínimo, um grupo hidroxila. Este grupo mostra diferentes atividades na planta, como suporte estrutural e proteção contra a radiação solar ultravioleta, estresse biótico ou abiótico, patógenos e herbívoros (de la ROSA et al., 2019).

Nos organismos vivos atuam neutralizando e sequestrando radicais livres e também são quelantes de metais de transição, como o  $Fe^{2+}$  e o  $Cu^+$ , suprimindo a formação de radicais livres catalisados por metais. Estão disponíveis nos alimentos em uma grande diversidade química, podendo ser classificados em dois grupos principais (Tabela 8): flavonoides e não flavonoides (VUOLO, LIMA e MARÓSTICA, 2019).

Os flavonoides são os mais abundantes em frutas e vegetais; representando quase dois terços dos compostos fenólicos da dieta; e são considerados os mais bioativos. Tem papel

fundamental na fisiologia pós-colheita em função do seu papel na coloração, sabor e aroma dos vegetais (de la ROSA et al., 2019).

**Tabela 8.** Classe dos fenólicos e seus principais componentes bioativos.

Classe dos fenólicos		Componentes bioativos	
Flavonoides	Flavonas	Apigenina, Luteolina, Crisina	
	Flavonois	Quercetina, Campferol, Miricetina, Galangina, Fisetina	
	Flavonois (catequinas)	Epicatequina, Epigallocatequina, Epigallocatequina galato	
	Flavanonas	Erodictiol, Espesntina, Naringenina	
	Isoflavonas	Genisteina, Daidazina	
	Antocianidinas	Cianidina, Delfinidina, Malvidina, Pelargonidina, Peonidina	
Não flavonoides	Ácidos fenólicos	Ácidos hidroxibenzoicos	Gálico Vanílico Protocaténico Siríngico
		Ácidos hidroxicinâmicos	<i>p</i> -cumárico Cafeico Feúlico Sinápico
	Taninos	Taninos condensados, hidrolisáveis, complexos	
	Estibenos	Trans-resveratrol	
	Cumarinas	Furanocumarinos, Cumarinos simples, Piranocumarinos	

FONTE: de la Rosa et al. (2019) com adaptações.

O consumo diário desses compostos numa dieta equilibrada promove uma ação protetora contra processos oxidativos que ocorrem naturalmente no organismo, podendo reduzir o risco de muitas doenças por sua capacidade de capturar e reativar danos causados por radicais livres. Assim, os fenólicos, antioxidantes naturais vêm se destacando por suas propriedades

biológicas como antimutagênicas, sequestradores de radicais livres e protetores contra doenças cardiovasculares (AADIL et al., 2019).

Assim, de acordo Vuolo, Lima e Maróstica, (2019) os principais ensaios utilizados para avaliar o potencial antioxidante de compostos fenólicos são a capacidade antioxidante equivalente ao trolox (ABTS ou TEAC), de redução férrica do plasma (poder redutor do íon ferro), de eliminação de radicais 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH) para reação de transferência de elétron único, e ensaio de capacidade de absorção de radicais de oxigênio (ORAC).

## **2.6. Estabilidade de bebidas: aspectos gerais**

A estabilidade de um alimento refere-se ao tempo de vida de prateleira que o mesmo pode ser conservado em determinadas condições de armazenamento e se mantém seguro para consumo. Durante o armazenamento, os alimentos são expostos a diferentes condições ambientais que favorecem as alterações físico-químicas, organolépticas, presença de microrganismos patogênicos e deteriorantes ou a perda do valor nutricional contida no rótulo (GIMÉNEZ e ARES, 2019).

No geral, a estabilidade de uma bebida é um importante indicador de consistência da produção, condições de armazenamento e confirmação de sistemas de qualidade. Portanto, é necessário conhecer os mecanismos e a cinética das reações que ocorrem neste produto e que o fazem perder sua qualidade e seu valor nutricional (ASHURST, 2016).

Os isotônicos constituem um meio pouco propício ao crescimento microbiano, por apresentar alta acidez e pH, relativamente baixo (3,0 - 3,5). No entanto, as leveduras são os contaminantes de maior preocupação em bebidas isotônicas por serem tolerantes à acidez e o poder de multiplicação sob condições anaeróbias (VALADÃO et al., 2019). Tradicionalmente, os isotônicos são elaborados com água, corantes, aromatizantes e conservantes, ingredientes que podem influenciar a estabilidade e o prazo de validade do produto final (ASHURST, 2016).

A presença do fruto, no caso o coproduto do cacau como base das formulações dos isotônicos, tem maior contribuição para esse processo de deterioração. O “mel de cacau” é propício ao desenvolvimento microbiano, por isso sua coleta deve ocorrer em até 24 horas após a quebra do fruto, portanto, torna-se necessário adicionar conservantes a fim de prevenir contaminações durante o armazenamento prolongado à temperatura ambiente (LANNES et al, 2013).

Os corantes naturais têm sido utilizados nos isotônicos em substituição aos sintéticos, como buriti (BOVI, PETRUS e PINHO, 2017) e extratos da casca e polpa de jabuticaba (FERREIRA et al., 2019; PORFIRIO et al., 2019). As betalainas, pigmento presente na pitaya vermelha, têm recebido atenção na indústria por atribuir cor atrativa, ter estabilidade em ampla faixa de pH (3 a 7) e apresentar potencial antioxidante (LEONG et al., 2018). Porém, de acordo Ashurst (2016), as cores, amarela e vermelha são as que mais sofrem deterioração da cor, sendo os principais fatores associados a presença de oxigênio e, particularmente, a exposição do produto à luz.

A degradação da betalaina é afetada principalmente pela temperatura e pelo armazenamento de soluções de betanina em presença de baixos níveis de oxigênio. Os íons metálicos ( $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^+$ ,  $\text{Sn}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Cr}^{3+}$ ) aceleram a degradação/oxidação do pigmento, levando a alteração da cor, a qual pode ser minimizada pelo processo de lavagem dos frutos (NGAMWONGLUMLERT, DEVAHASTIN e CHIEWCHAN, 2015). Outro fator importante é atividade de água, em altos níveis também aceleram a degradação desses compostos, aumentando significativamente em alimentos com atividade de água entre 0,32 e 0,75. E o aumento da estabilidade em valores baixos é atribuído a mobilidade de reagentes ou a solubilidade limitada de oxigênio (DELGADO-VARGAS, JIMÉNEZ e PAREDES-LOPEZ, 2000; WONG e SIOW, 2015).

Entretanto, é promissor o uso da pitaya vermelha como aditivo natural funcional na indústria de alimentos. Gengatharan, Dykes e Choo (2017) ao avaliarem os efeitos do pH, refrigeração (4 °C) e aceitação sensorial de iogurte preparado com corante natural da pitaya vermelha e corante comercial da beterraba (E-162), verificaram maior porcentagem de redução de betacianina em pH 3, menor perda de conteúdo de betacianina durante 14 dias de armazenamento refrigerado para os corantes de pitaya vermelha e semelhança na aceitabilidade da cor do iogurte.

Para isto, técnicas de processamento podem ser aplicadas aos produtos para assegurar a manutenção de sua qualidade por um maior período de tempo. Geralmente, a pasteurização é o método mais escolhido para manter a qualidade das bebidas à base de fruta (SHIGEMATSU et al., 2019). Outras técnicas eficazes podem ser combinadas a pasteurização, como alta acidez e assepsia de embalagem, bem como o monitoramento de testes sensoriais afetivos, favorecendo assim a preservação do produto final à temperatura ambiente (VALADÃO et al., 2019).

Nesse contexto, diversos estudos têm avaliado a estabilidade de bebidas isotônicas com substituição parcial ou total de corantes sintéticos. Girones-Vilaplana et al. (2012) elaboraram uma nova bebida isotônica de limão e maqui berry, e observaram que os seus compostos

fenólicos e capacidade antioxidante permaneceram estáveis ao longo de 70 dias de armazenamento. No entanto, a cor apresentou pequenas variações, mas ainda se manteve atrativa durante esse período.

Girones-Vilaplana et al. (2016) avaliaram o efeito de tratamentos térmicos leves e severos no conteúdo de antocianina na bebida isotônica de limão e maqui berry, sua capacidade antioxidante, cor e segurança microbiológica. Após 56 dias de armazenamento (7 °C e 37 °C), os tratamentos térmicos não afetaram drasticamente o teor de antocianinas e sua capacidade antioxidante, a cor foi alterada pelo calor, e o tratamento térmico suave com armazenamento a 7 °C foi considerado o ideal para evitar o crescimento microbiano.

Bovi, Petrus e Pinho (2017) ao incorporar a nanoemulsão do óleo de buriti a uma bebida isotônica sabor tangerina, verificaram que não houve separação de fases durante o período de armazenamento de 38 dias, mesmo após as altas temperaturas no processo de pasteurização. As formulações mostram-se estáveis sob refrigeração e estavam em conformidade de acordo as análises microbiológicas.

Porfirio et al. (2019) ao elaborar isotônicos com extratos hidroetanólicos concentrados da casca e polpa de jabuticaba, observaram que as formulações permaneceram mais estáveis ao armazenamento em 4 °C por 90 dias, sem alterar sua cor, teor de antocianinas e estavam em conformidade às análises microbiológicas.

Nesse contexto, a estabilidade é um parâmetro fundamental no desenvolvimento de um novo produto, sendo essencial aplicar as boas práticas de fabricação em todo processo produtivo para preservar as características funcionais e assegurar ao consumidor a aquisição de um produto com qualidade nutricional.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. Objetivo geral**

Desenvolver formulações de isotônicos antioxidantes a base de “mel de cacau” e extratos hidroetanólicos concentrados de casca e polpa de pitaya vermelha, destinada a praticantes de atividade física.

#### **3.2. Objetivos específicos**

- Obter extratos concentrados oriundos da casca e polpa de pitaya vermelha a partir de soluções hidroetanólicas concentradas;
- Investigar os antinutrientes e citotoxicidade da casca de pitaya vermelha;
- Determinar as características físico-químicas e químicas das matérias-primas e das formulações avaliadas;
- Estabelecer formulações para o isotônico que atenda os padrões da legislação vigente;
- Avaliar o efeito das formulações quanto na osmolaridade utilizando diferentes concentrações de “mel de cacau”, extratos hidroetanólicos concentrados da casca e polpa de pitaya vermelha e sacarose;
- Avaliar a capacidade antioxidante das matérias-primas e das formulações testadas;
- Avaliar a preferência e aceitação sensorial das formulações elaboradas através de escala hedônica e intenção de compra;
- Avaliar a estabilidade física, química e microbiológica das formulações durante período de armazenamento de 0 a 30 dias em temperatura de 25 °C e submetidas a resfriamento a 4 °C.

## 4. METODOLOGIA

Os experimentos foram conduzidos no laboratório do Núcleo de Estudos em Ciências de Alimentos (NECAL) e em colaboração com o laboratório de Química Analítica da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), Campus Itapetinga - Bahia. Contando ainda com a parceria da Cooperativa de Produtos de leite Resp. Ltda. (Cooleite) em Itapetinga – BA e do laboratório de Química Analítica na Universidade Federal da Bahia, Campus Anísio Teixeira, Vitória da Conquista – BA.

### 4.1. Obtenção da matéria-prima

O “mel de cacau” foi extraído a partir de frutos saudáveis e maduros no período de fevereiro e outubro de 2019, cedido pela Inovacau Produtos derivados do Cacau LTDA, fazenda Porto Esperança no Distrito Rio do Braço em Ilhéus-BA, localizada no meridional 14°, 38', 39" latitude sul e 39°, 15', 15" longitude oeste de Greenwich, e altitude de 485,7797 m acima do mar.

Extraiu-se o “mel de cacau” por meio da prensagem a frio das amêndoas em até 24 horas sem adição de aditivos químicos e açúcar, em seguida, este foi acondicionado em garrafas plásticas descartáveis e submetido ao congelamento em freezer horizontal ( $-18 \pm 1$  °C) até realização das análises, como ilustrado na Figura 6.

**Figura 6.** Ilustração da prensagem dos frutos do cacau para obtenção do “mel de cacau”.



FONTE: Próprio autor (2020).

As pitayas vermelhas foram adquiridas da Fazenda Furados, no período de agosto a novembro de 2018 e de janeiro a maio de 2019, município de Salinas – MG, localizada, meridional 16°, 05', 23,415" latitude sul e 42°, 14', 40,976" longitude oeste de Greenwich e altitude de 485,7797 m acima do mar.

Os frutos estavam maduros e passaram pelas etapas de recepção, pré-lavagem (em água corrente), sanitização (imersão em água contendo 100 mg.L<sup>-1</sup> de cloro residual) e enxague (imersão em água com 1-2 mg.L<sup>-1</sup> de cloro) no NECAL. Sequencialmente, realizou-se cortes transversais dos frutos com faca esterilizada, separando as cascas das polpas, que posteriormente, ambas foram acondicionadas em sacos de polietileno de baixa densidade e armazenadas em freezer (-18 ± 1 °C) até a realização das análises.

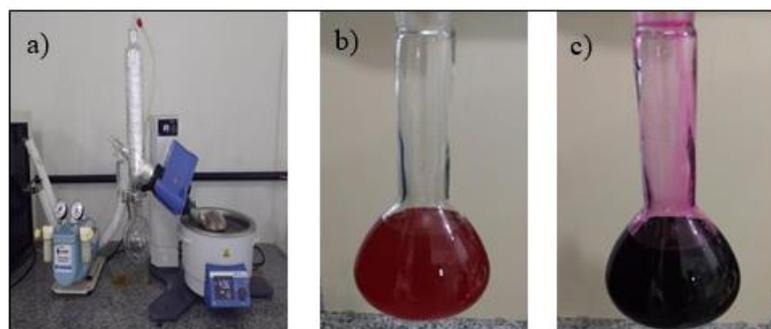
Para a condução do experimento, processou-se 10 kg da pitaya vermelha in natura, obtendo 8,2 kg de polpa, o que corresponde a um rendimento de 82%, e 1,80 kg de casca, correspondente a um rendimento de 18%.

#### 4.2. Obtenção dos extratos hidroetanólicos (EH) da pitaya vermelha

Os EH foram obtidos segundo a metodologia proposta por Samavardhana et al. (2015). Pesou-se 200 g de casca da pitaya vermelha que foi homogeneizada com 400 mL de solução hidroetanólica (etanol:água 70:30 v.v<sup>-1</sup>) e submetidas à três extrações sucessivas em banho ultrassônico (UltraSonic Cleaner®, USC-1400, Unique, Brasil) durante 30 minutos à temperatura ambiente (25±2 °C), respectivamente. Sequencialmente, submeteu-se as soluções a centrifugação 5000 x g por 10 minutos (Hettiche®, Universal 320R, Germany), e os sobrenadantes (extratos hidroetanólicos) armazenados em frascos âmbar sob refrigeração (4 ± 1 °C). O mesmo procedimento foi realizado para obter o EH da polpa do fruto.

Os extratos obtidos foram concentrados em evaporador rotativo (IKA®HB Digital, RV8, USA) a 50 °C até a redução em 30% do solvente (Figura 7). Finalmente, foram acondicionados em frascos âmbar, e armazenados (-18 ± 1 °C), até a utilização dos mesmos.

**Figura 7.** Ilustração do evaporador rotativo (a) e dos extratos hidroetanólicos (EH) concentrados da casca (b) e polpa de pitaya vermelha (c).



FONTE: Próprio autor (2020).

### **4.3. Investigação de antinutrientes na casca de pitaya vermelha**

#### **4.3.1. Determinação de nitratos**

Investigou-se a presença do ácido nítrico conforme o procedimento proposto por Cataldo et al. (1975). O ensaio fundamenta-se na complexação do ácido salicílico pelo íon nitrato sendo as absorbâncias medidas em espectrofotômetro (Shimadzu UV-1800, Duisburg, Germany) a 410 nm. Para quantificação do nitrato foram construídas curvas analíticas, utilizando como padrão analítico soluções de nitrato de potássio com diferentes concentrações, sendo os resultados expressos em mg de nitrato por 100 g de amostra.

#### **4.3.2. Determinação de saponinas**

Utilizou-se o procedimento proposto por Vigo et al. (2003), utilizando cloreto de cobalto como reagente cromogênico em meio ácido e absorbâncias medidas em espectrofotômetro (Shimadzu UV-1800, Duisburg, Germany) a 284 nm. O método fundamenta-se na formação do complexo do cloreto de cobalto com a saponina e ácido sulfúrico concentrado, e absorbância do cromóforo é diretamente proporcional à quantidade de saponinas presentes. Para quantificação das saponinas totais foram construídas curvas analíticas utilizando solução de saponina nas concentrações variando de 0,08 a 0,32 mg.mL<sup>-1</sup>. Os resultados expressos em g de saponina por 100 g de amostra.

#### **4.3.3. Determinação de oxalatos**

Adotou-se o protocolo proposto por Loures e Jokl (1990). O ensaio fundamenta-se na extração do ácido oxálico sob aquecimento, na presença do ácido clorídrico, sendo precipitado e quantificado pela titulação do oxalato de cálcio com permanganato de potássio. Os resultados foram expressos em mg de oxalato por 100 g de amostra.

#### **4.3.4. Determinação de fitatos**

Utilizou-se a metodologia proposta por Ruiz de Lope et al. (1982). O método foi baseado na reação entre o íon férrico e o ácido sulfossalicílico provocando alteração de cor. Determinou-se a porcentagem de ácido fítico na amostra utilizando-se a equação (Eq. 1). Os resultados foram expressos em mg.g<sup>-1</sup> de peso seco.

$$\text{Ácido fítico (\%)} = \frac{0,66 (10 - V)}{P} \quad \text{Eq. 1}$$

Onde:

V = volume da solução de EDTA em mililitros;

P = peso da amostra em gramas.

Utilizou-se a razão atômica (Ferro:Fósforo 4:6 = 0,66).

#### **4.4. Investigação da citotoxicidade do extrato hidroetanólico concentrado da casca (EH\_C) de pitaya vermelha**

Realizou-se a análise de citotoxicidade do EH\_C de pitaya vermelha com *Artemia salina L.* de acordo a técnica descrita por Meyer et al. (1982). O método fundamenta-se em avaliar a presença de possíveis compostos tóxicos nas amostras, utilizando o microcrustáceo, *Artemia salina L.*, como bioindicador. Inicialmente, os cistos de *Artemia salina L.* foram eclodidos em uma solução nutritiva previamente preparada, pelo período de 24 horas, com aeração constante. Colocou-se em cada tubo de ensaio 5 mL da solução salina (1 água salina:1 água destilada) mais concentrações variáveis do EH\_C (0; 25; 50; 100; 500; 1000 e 2000  $\mu\text{L.mL}^{-1}$ ) e 10 larvas, sendo realizado teste em quadruplicata. Após 24 horas, realizou-se a contagem de larvas mortas e calculou-se DL50 utilizando regressão linear no programa BioStat 5.0.1. O critério para classificar a citotoxicidade do extrato usando a *Artemia salina L.* foi baseado nos valores encontrados para DL50 definido por Meyer et al. (1982) e Nguta et al. (2012), onde os valores de DL50 > 1000  $\mu\text{L.mL}^{-1}$  são considerados não tóxicos, aqueles entre 500 e 1000  $\mu\text{L.mL}^{-1}$  são levemente tóxicos, aqueles entre 100 e 500  $\mu\text{L.mL}^{-1}$  são moderadamente tóxicos e aqueles <100  $\mu\text{L.mL}^{-1}$  como fortemente tóxico.

#### **4.5. Caracterização físico-química do “mel de cacau” e dos EH de pitaya vermelha**

##### **4.5.1. Determinação do pH**

As medidas do pH foram realizadas por potenciometria, conforme a metodologia nº 981.12 descrita pela AOAC (2010). As leituras foram realizadas diretamente em pHmetro digital (BEL W3B) previamente calibrado com soluções tampão pH 4 e 7.

#### **4.5.2. Determinação da acidez titulável total (ATT)**

Utilizou-se a metodologia nº 942.15 descrita pela AOAC (2010). Os resultados foram expressos em g de ácido málico.100 g<sup>-1</sup> para os extratos hidroetanólicos da pitaya vermelha, e g de ácido cítrico.100g<sup>-1</sup> para o “mel de cacau”.

#### **4.5.3. Determinação sólidos solúveis totais (SST)**

Determinou-se o teor de sólidos solúveis totais das amostras por refratometria, de acordo o método nº 932.12 descrito pela AOAC (2010). As leituras foram realizadas diretamente no refratômetro de Abbé portátil (Marca Quimis, modelo I.107-1, nº 910.015), com escala graduada em °Brix.

#### **4.5.4. Determinação de açúcares (reduzores, não reduzores e totais)**

Avaliou-se os açúcares reduzores apenas para o “mel de cacau” pelo método do ácido dinitrosalicílico (DNS), proposto por Miller (1959). O teste de DNS (ácido dinitrosalicílico) baseia-se na reação entre o açúcar redutor e o ácido 3,5-dinitrosalicílico (cor amarelo), que é reduzido a um composto colorido avermelhado, o ácido 3-amino-5-nitrosalicílico, oxidando o monossacarídeo redutor. Os açúcares reduzores foram quantificados por espectrofotometria com comprimento de onda de 540 nm, utilizando-se uma curva padrão de glicose cuja concentração varia no intervalo de 100 mg a 540 mg.

Determinou-se os açúcares totais através da hidrólise dos açúcares não reduzores pela ação do HCl hidrolisado e a posterior neutralização com o NaOH a 30%. O procedimento para a quantificação dos açúcares totais foi o mesmo utilizado para os açúcares reduzores utilizando o teste de DNS. Os açúcares não-reduzores foram obtidos pela diferença dos teores entre os açúcares totais e reduzores. Os resultados foram expressos em mg de glicose.100g<sup>-1</sup>.

#### **4.6. Determinação do perfil de minerais do “mel de cacau”**

##### **4.6.1. Digestão das amostras**

A digestão das amostras foi realizada por via úmida, em triplicata, utilizando um bloco digestor (TECNAL, TE-040/25, Brasil). As vidrarias utilizadas foram descontaminadas em solução de ácido nítrico 10% por 24 horas. Inicialmente, pipetou-se 5 mL da amostra de “mel de cacau” em cada tubo e acrescentou-se 3 mL de ácido nítrico PA. Os tubos foram cobertos

com filme de pvc e deixados em repouso por 40 horas, para auxiliar na solubilização da amostra e na sua posterior digestão.

Após esse período, adicionou-se 1 mL de ácido nítrico PA e os tubos foram levados para o bloco digestor, com temperatura de 140 °C. Após 2 horas de digestão, adicionou-se 2 mL de peróxido de hidrogênio PA e mais 1 mL de ácido nítrico PA. Ao fim da digestão, as amostras foram transferidas quantitativamente para tubos tipo falcon de 15 mL, estéreis, e completados com água ultrapura até o volume de 8 mL. Para a obtenção do branco foi utilizado o mesmo processo descrito acima, excluindo somente a fração correspondente à amostra.

#### **4.6.2. Quantificação dos minerais**

Determinou-se a quantificação dos minerais conforme metodologia nº 96.923 descrita pela AOAC (2010). As concentrações dos minerais foram determinadas por espectrofotometria de absorção atômica com chama (Modelo novaA® 300, Marca Analytikjena, Jena, Alemanha).

Os minerais analisados foram: zinco (Zn), ferro (Fe), sódio (Na), potássio (K) e magnésio (Mg). O teor de minerais foi determinado por interpolação das absorbâncias das amostras em uma equação de regressão linear obtida a partir de curvas de calibração construídas com padrões dos minerais avaliados (concentrações variando de 0 a 20  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) e os resultados foram expressos em mg do mineral por 100 g da amostra.

### **4.7. Caracterização química do “mel de cacau” e dos EH de pitaya vermelha**

#### **4.7.1. Determinação de constituintes fenólicos totais (CFT)**

Avaliou-se os CFT de acordo com a ISO 14502-1: (2005), utilizando o reagente de Folin-Ciocalteu. O método fundamenta-se na redução dos ácidos fosfomolibdico – fosfotungstíco pelas hidroxilas fenólicas, originando óxidos azuis de tungstênio e de molibdênio, onde a coloração permite determinar a concentração das substâncias redutoras. Para quantificação, utilizou-se uma curva analítica de ácido gálico nas concentrações de 0,01; 0,03; 0,05; 0,07 e 0,09  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ . Os coeficientes de determinações das curvas analíticas não foram inferiores a 0,9992. Os resultados foram expressos em equivalentes de ácido gálico (EAG).100  $\text{g}^{-1}$  de extrato.

#### 4.7.2. Determinação de betalainas totais

Determinou-se os teores de betalainas nos EH de pitaya vermelha conforme Stintzing, Schieber e Carle (2003) com a leitura das amostras em espectrofômetro (Shimadzu UV-1800, Duisburg, Germany) com absorbâncias descritas nas especificações abaixo. Os resultados foram calculados de acordo a equação (Eq. 2), expressos em betaninas (coloração vermelho-púrpura) e indicaxantina (coloração amarelo-alaranjado).

$$BC = \frac{(A \times MM \times 1000)}{(\varepsilon \times L)} \quad \text{Eq. 2}$$

onde:

Bc = equivalente em betanina e indicaxantina (mg.mL<sup>-1</sup>);

A = λ max a 538 nm betanina e 480 nm indicaxantina;

MM = massa molar da betanina (550 g.mol<sup>-1</sup>) e da indicaxantina (308 g.mol<sup>-1</sup>);

ε = coeficiente molar de excitação da betanina (65.000 L.mol.cm<sup>-1</sup>) e da indicaxantina (48.000 L.mol.cm<sup>-1</sup>);

L = largura da cubeta (1 cm).

#### 4.7.3. Determinação de flavonoides totais (FT)

Determinou-se o teor de flavonoides totais no “mel de cacau” conforme Sakana, Tachibana e Okada (2005). O método fundamenta-se na reação do íon alumínio (Al<sup>+3</sup>) com as moléculas de flavonoides da amostra, formando complexos estáveis (coloração amarela) que evita a interferência de outros compostos fenólicos. Para quantificação gerou-se curvas analíticas de catequina nas concentrações de 0,03 a 0,5 mg.mL<sup>-1</sup>. Os coeficientes de determinação das curvas analíticas não foram inferiores a 0,9965. Os resultados foram expressos em mg de catequina.100 mL<sup>-1</sup> de amostra.

#### 4.8. Determinação da capacidade antioxidante do “mel de cacau” e dos EH de pitaya vermelha

##### 4.8.1. Método do radical 2,2-Difenil-1-picril-hidrazil (DPPH)

Determinou-se a capacidade antioxidante pelo método DPPH conforme Brand-

Williams, Cuvelier e Berset (1995). O princípio fundamenta-se na descoloração da solução DPPH da coloração violeta para amarelada que mensura a capacidade antioxidante em sequestrar o referido radical livre. Para cada amostra, preparou-se cinco diluições diferentes e em triplicata. Para calibrar o espectrofotômetro, preparou-se o branco utilizando etanol absoluto P.A. em substituição a amostra. Em seguida, realizou-se a leitura em espectrofotômetro a 515 nm. Os resultados foram expressos Concentração Efetiva 50% (CE<sub>50</sub>).

#### **4.8.2. Determinação do Poder Redutor (PR)**

Avaliou-se o PR conforme Oyaizu (1988). O ensaio fundamenta-se na capacidade dos antioxidantes para reduzir o complexo Fe (III)/ferricianeto [FeCl<sub>3</sub>/K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>], à forma ferrosa, Fe (II), em meio ácido para manter a solubilidade do ferro. Observando-se assim, a mudança da coloração amarela (Fe<sup>3+</sup>/ferrocianeto) para tons de verde ou azul Fe (II).

Preparou-se as amostras com cinco concentrações diferentes de extrato.mL<sup>-1</sup>, em triplicata, de maneira que garantisse redução em no mínimo 50% o radical Fe (III). A partir das absorvâncias das diferentes concentrações dos extratos, foram construídos os gráficos de dispersão, plotando-se no eixo Y as absorvâncias e no eixo X as concentrações dos extratos (mg. mL<sup>-1</sup>). Para calcular o CE<sub>50</sub> utilizou-se a equação da reta, substituindo o valor de Y por 50 para obter a concentração de extrato com capacidade de reduzir 50% do complexo Fe (III)/ferricianeto [FeCl<sub>3</sub>/K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>].

#### **4.8.3. Determinação da oxidação acoplada do β-caroteno e ácido linoleico**

Determinou-se a oxidação acoplada do β-caroteno e ácido linoleico, adotando o procedimento proposto por Marco (1968) modificado por Miller (1971). Este método utiliza o ácido linoleico, monopalmitato de polioxietileno sorbitan (Tween 40) e o β-caroteno. Trata-se de um ensaio espectrofotométrico baseado na oxidação (descoloração) do β-caroteno induzida pelos produtos da degradação oxidativa do ácido linoleico, ou seja, o método avalia a atividade de inibição de radicais livres gerados durante a peroxidação do ácido linoleico.

Os resultados foram expressos em percentagem de inibição da oxidação. Primeiramente, calculou-se a redução da absorvância do sistema sem antioxidante (Eq. 3). O decréscimo da leitura da absorvância das amostras foi correlacionado com o sistema e estabeleceu-se o percentual de oxidação (Eq. 4), e em seguida, subtraiu-se a percentagem de oxidação a cada amostra de 100 (Eq. 5).

$$\text{Redução da absorvância} = \text{Abs}_{\text{inicial}} - \text{Abs}_{\text{final}} \quad \text{Eq. 3}$$

$$\% \text{ Oxidação} = \frac{[(\text{Redução Abs})_{\text{amostra}} \times 100]}{(\text{Redução Abs})_{\text{sistema}}} \quad \text{Eq. 4}$$

$$\% \text{ Proteção} = 100 - (\% \text{ Oxidação}) \quad \text{Eq. 5}$$

#### 4.9. Elaboração das formulações de isotônicos

As formulações de isotônicos foram elaboradas por meio de testes preliminares. Inicialmente, testou-se as formulações ajustando a adição de “mel de cacau” com a concentração osmótica, 250 a 340 mOsm L<sup>-1</sup>, conforme estabelecido pelo *Codex Alimentarius* (FAO/WHO, 2019). Após encontrar sete formulações que apresentaram osmolaridade dentro da faixa recomendada, ajustou-se a adição de sacarose, e em seguida, a cor do isotônico com adição dos EH\_C e EH\_P de pitaya e os conservantes. As cinco formulações de isotônicos escolhidas foram as que apresentaram maior sabor do “mel de cacau” com cor atrativa aos consumidores.

As cinco formulações foram preparadas pela dissolução dos ingredientes em água destilada no volume total de 100 mL, variando-se as concentrações do “mel de cacau” em 1%, pois seu teor de sólidos totais interferiu diretamente na osmolaridade das bebidas. A quantidade do extrato hidroetanólico concentrado da casca e polpa de pitaya não variou por promover a cor desejada para as formulações. Os ingredientes utilizados na elaboração dos isotônicos estão apresentados na Tabela 9.

**Tabela 9.** Elaboração das formulações de isotônicos.

	<b>F1</b>	<b>F2</b>	<b>F3</b>	<b>F4</b>	<b>F5</b>
<b>Ingredientes</b>	<b>(g.100 g<sup>-1</sup>)</b>				
“Mel de cacau” (v.v <sup>-1</sup> )	17	18	19	20	21
Extrato da casca (v.v <sup>-1</sup> )	1	1	1	1	1
Extrato da polpa (v.v <sup>-1</sup> )	1	1	1	1	1
Sacarose (m.v <sup>-1</sup> )	2	2	2	2	2
Ácido cítrico (m.v <sup>-1</sup> )	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Sorbato de potássio (m.v <sup>-1</sup> )	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Benzoato de sódio (m.v <sup>-1</sup> )	0,016	0,016	0,016	0,016	0,016
Cloreto de sódio (m.v <sup>-1</sup> )	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01

FONTE: Dados autor (2020).

Os isotônicos foram centrifugados (Hettiche®/ Modelo Universal 320R, Germany) para retirar as partículas em suspensão provenientes do “mel de cacau” e possíveis interferências nas formulações de isotônicos, tornando-as mais translúcidas. Em seguida, foram envasados em garrafas plásticas (Figura 8), previamente sanitizadas (imersas em solução clorada 300 mg.mL<sup>-1</sup> por 10 minutos e lavadas em seguida em água destilada). Por fim, as bebidas foram submetidas ao tratamento térmico lento (65 °C por 30 min) em banho maria (Banho Dubnoff – 157, Solab, Brasil), sob agitação constante, e posteriormente, armazenadas sob refrigeração (4 °C ± 1 °C) e temperatura ambiente controlada (25 °C).

**Figura 8.** Ilustração das formulações de isotônicos.



FONTE: Próprio autor (2020).

#### **4.9.1. Caracterização físico-químicas das formulações de isotônicos**

Avaliou-se as medidas de pH, acidez total e sólidos solúveis totais conforme descrito no item 4.5.

#### **4.9.2. Caracterização química das formulações de isotônicos**

Determinou-se os teores de constituintes fenólicos totais, betalaina totais e flavonoides totais conforme descrito no item 4.7.

#### **4.9.3. Determinação da osmolaridade das formulações de isotônicos**

Determinou-se o valor osmótico das formulações através da crioscopia, segundo Gomes

e Oliveira (2011), por meio de medidas do ponto de congelamento nas amostras, utilizando-se o crioscópico (MK 540, ITR) ilustrado na Figura 9. O aparelho foi calibrado com soluções padrões correspondendo aos pontos crioscópicos  $-0,422^{\circ}\text{H}$ ,  $-0,530^{\circ}\text{H}$  e  $-0,621^{\circ}\text{H}$ . Os resultados em graus Hortvest ( $^{\circ}\text{H}$ ) foram convertidos em graus celsius ( $^{\circ}\text{C}$ ), e o cálculo da osmolaridade foi obtido pela equação (Eq.6).

$$\text{Osmolaridade (mOsmol.L}^{-1}\text{)} = \frac{\Delta T_c}{K_c} \times 1000 \quad \text{Eq. 6}$$

Onde:

$K_c = 1,86 \text{ }^{\circ}\text{C mol}^{-1}\text{kg}^{-1}$  (constante crioscópica da água);

$\Delta T_c$  = temperatura no ponto de congelamento das amostras de bebidas.

**Figura 9.** Ilustração do crioscópico.



FONTE: Próprio autor (2020).

#### **4.9.4. Determinação da capacidade antioxidante das formulações de isotônicos**

Avaliou-se a capacidade antioxidantes (DPPH, PR e oxidação acoplada do betacaroteno e ácido linoleico) das bebidas isotônicas conforme descrito no item 4.8.

##### **4.9.4.1. Determinação da degradação oxidativa da 2-desoxirribose (2-DR)**

Determinou-se a degradação oxidativa da 2-desoxirribose de acordo a metodologia proposta por Halliell, Gutteridge e Arouma (1987). O ensaio fundamenta-se na quantificação do malonaldeído (MDA), produto da degradação da (2-DR), através de sua condensação

com o ácido tiobarbitúrico (TBA). Adicionou-se o TBA, em meio ácido e após aquecimento, formou-se um cromógeno de coloração rosa (TBA) 2-MDA, que foi quantificado por espectrofotômetro (Shimadzu UV-1800, Duisburg, Germany) em 532 nm. Os resultados são expressos em % de inibição da degradação da 2-DR conforme a equação (Eq. 7).

$$\% \text{ inibição} = \frac{A_{\text{controle}} - A_{\text{amostra}}}{A_{\text{controle}}} \times 100 \quad \text{Eq. 7}$$

#### **4.9.5. Composição nutricional das formulações de isotônicos**

##### **4.9.5.1. Determinação de proteínas**

Adotou-se o método de Bradford (1976). Para quantificação construiu-se curvas analíticas de albumina sérica bovina (BSA) nas concentrações variando de 0,2 mg.mL<sup>-1</sup> a 1,2 mg.mL<sup>-1</sup>, sendo as leituras realizadas em espectrofotômetro (Shimadzu UV-1800, Duisburg, Germany) a 595 nm. Os coeficientes de determinação das curvas analíticas não foram inferiores a 0,9933. Os resultados foram expressos em g de BSA.100 mL<sup>-1</sup> das formulações de isotônicos.

##### **4.9.5.2. Determinação de lipídios**

Determinou-se os lipídeos de acordo com a Adolfo Lutz (IAL, 2008). Transferiu-se para uma placa de petri 10 mL das formulações de isotônicos contendo uma porção de algodão apoiada em papel filtro. A mistura foi mantida em estufa a 105 °C por 1 hora. A amostra desidratada, foi transferida para o extrator de Soxhlet, sendo mantido sob refluxo por 16 horas utilizando éter de petróleo como solvente extrator. Posteriormente, evaporou-se o éter do balão, e o balão com resíduo foi colocado em estufa a 105 °C por 1 hora. A fração lipídica remanescente foi quantificada por gravimetria conforme a equação (Eq.8).

$$\text{Lipídios (g. 100mL}^{-1}) = \frac{\text{Peso}_{(\text{balão}+\text{resíduo})} - \text{Peso}_{\text{balão}}}{\text{Peso}_{\text{amostra}}} \times 100 \quad \text{Eq. 8}$$

##### **4.9.5.3. Determinação de açúcares (reduzores, não reduzores e totais)**

Avaliou-se os açúcares reduzores conforme descrito no item 4.5.4.

#### 4.9.5.4. Valor calórico total

O valor calórico total foi calculado a partir da soma das calorias correspondentes para proteínas, lipídios e carboidratos os quais fornecem 4; 9 e 4 kcal g<sup>-1</sup>, respectivamente (BRASIL, 2003).

#### 4.9.6. Determinação do perfil de minerais das formulações de isotônicos

Determinou-se a quantificação dos minerais conforme item 4.6.

#### 4.9.7. Determinação objetiva de cor das formulações de isotônicos

A análise objetiva da cor foi caracterizada pelo sistema de cor CieLab, sendo os componentes cromáticos (L\*, a\* e b\*) determinados em espectrofotômetro ColorQuest XE (HunterLab - Reston, Virginia, USA). Onde: L\* define a luminosidade (L\* = 0 preto e L\* = 100 branco), onde a\* e b\*são responsáveis pela cromaticidade (+a\* vermelho, -a\* verde, + b\* amarelo, -b\* azul). Os valores de C\* (saturação da cor) e H (ângulo de tonalidade) foram calculados a partir dos valores de a\* e b\* de acordo com as equações 9 e 10:

$$C^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad \text{Eq. 9}$$

$$h^* = \arctan(b^*/a^*) \quad \text{Eq. 10}$$

#### 4.9.8. Análise microbiológica das formulações de isotônicos

A caracterização microbiológica fundamentou-se na quantificação coliformes totais e bolores e leveduras, verificação da presença de *Salmonella* sp e *Escherichia coli*, conforme estabelecido pela ANVISA (BRASIL, 2019). As análises microbiológicas foram realizadas segundo método nº 998.08 descrito pela AOAC (2010) para coliformes totais e *Escherichia coli*, ISO 6579-1 (2017) para *Salmonella* spp. e APHA 21:2015 para bolores e leveduras. Os resultados foram expressos em Unidades Formadoras de Colônias (UFC) por 100 mL de amostra.

#### **4.10. Estabilidade das formulações de isotônicos**

Submeteu-se as formulações de isotônicos às análises microbiológicas (item 4.14.), análise objetiva de cor (item 4.13.) e caracterização química (CFT e betalaina, item 4.7.), as quais serão avaliadas por período de armazenamento em 0 e 30 dias, submetidas a temperatura ambiente (25 °C) e sob refrigeração (4 °C).

#### **4.11. Análise sensorial das formulações de isotônicos**

Antes da realização dos testes sensoriais, o presente estudo passou por aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB - CEP/UFRB, conforme Certificado de Apresentação para Apreciação Ética - CAAE: 64801417.5.0000.0056. Para cada voluntário participante foram entregues duas vias do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

A análise sensorial foi conduzida em local aberto no Evento de Ciclismo Pedal Bruto em Itapetinga-BA. Após trilha com duração mínima de 01 hora, os provadores receberam e assinaram o TCLE (Apêndice I) e, posteriormente, foi entregue um questionário (Apêndice II) para investigação do perfil de consumo de bebidas isotônicas. Em seguida, realizou-se o teste de aceitação utilizando-se escala hedônica verbal de nove pontos onde 103 provadores voluntários e não treinados, receberam em sessão única cinco amostras de isotônicos, codificadas com números aleatórios de três dígitos, e os avaliadores expressaram as notas referentes a cada atributo avaliado (cor e sabor). Os resultados foram coletados mediante o preenchimento de fichas de avaliação (Apêndice III), juntamente a esta ficha foi avaliado a intenção de compra, com cinco categorias de escala “certamente compraria” a “certamente não compraria”.

Avaliou-se também a preferência dos provadores em relação aos atributos doçura e intensidade do sabor do “mel de cacau” através da escala do ideal, considerando cinco categorias que variava de “muito mais doce que o ideal” a “muito menos doce que o ideal” e “muito mais intenso que o ideal” a “muito menos intenso que o ideal”, respectivamente (Apêndice III).

#### **4.12. Delineamento estatístico**

O experimento foi conduzido utilizando o delineamento inteiramente casualizado (DIC). Para as análises físico-químicas, químicas e capacidade antioxidante das matérias-

primas, calculou-se a média  $\pm$  desvio padrão (DP) dos dados obtidos.

Os resultados das análises de caracterização físico-química, química, composição nutricional, capacidade antioxidante, estabilidade e aceitação sensorial das cinco formulações de isotônicos (F1, F2, F3, F4, F5) foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e de regressão em função dos tratamentos à 5% de significância. Considerou-se 3 lotes diferentes para estas análises e os dados foram obtidos em triplicata. Os modelos matemáticos foram escolhidos de acordo com os efeitos significativos do modelo proposto ( $p < 0,05$ ), falta de ajustamento não significativa ( $p > 0,05$ ) e coeficientes de determinação ( $R^2$ ).

Todas as análises estatísticas foram conduzidas utilizando-se o programa estatístico *SAS Student® versão 9.0*.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. Investigação de antinutrientes na casca de pitaya vermelha

O termo “fator antinutricional” tem sido utilizado para descrever compostos ou classes de compostos presentes numa extensa variedade de alimentos de origem vegetal, que quando consumidos, reduzem a biodisponibilidade de nutrientes e, conseqüentemente, o valor nutritivo dos alimentos.

Assim, a investigação de antinutrientes em casca de frutas torna-se necessária por não ser um alimento consumido habitualmente pelos seres humanos, além disso, é restrito estudos que abordem esta temática da casca de pitaya vermelha.

Os resultados de antinutrientes presentes na casca de pitaya vermelha estão apresentados na Tabela 10.

**Tabela 10.** Resultados das análises de fatores antinutricionais da casca de pitaya vermelha.

<b>Antinutrientes</b>	<b>Valores médios ± desvio padrão</b>
Fitatos (g.100mL <sup>-1</sup> )	2,89 ± 0,50
Nitratos (mg.100g <sup>-1</sup> )	0,10 ± 0,05
Oxalatos (mg.100g <sup>-1</sup> )	0,03 ± 0,01
Saponinas (g.100g <sup>-1</sup> )	1,71 ± 0,04

FONTE: Dados autor (2020).

A casca de pitaya vermelha apresentou teores expressivos de fitatos de 2,89 g.100mL<sup>-1</sup>, apresentando-se superiores ao relatado por Nissar et al. (2017) que destacam valores de ingestão diária de referência (DRI) para fitatos entre 631-746 mg.dia<sup>-1</sup> no Reino Unido e nos Estados Unidos. No Brasil, a resolução nº 263 de 22 de setembro de 2005 (BRASIL, 2005) revogou o Regulamento Técnico para a Fixação de Identidade e Qualidade de Mistura à Base de Farelos de Cereais que determinava o limite máximo de fitato permitido (0,1 g.100g<sup>-1</sup>). Os valores das DRIs para este antinutriente variam a depender do país, pois o ácido fítico, reconhecido como fitato, é armazenado principalmente na forma de fósforo nas plantas e são considerados componentes naturais por estarem em altas concentrações em diversas sementes, cereais e leguminosas (DAHDOUH et al, 2019).

Entretanto, o excesso de ácido fítico pode comprometer a biodisponibilidade de alguns minerais essenciais, como o cálcio, magnésio, ferro, zinco, cobre e potássio. No entanto, alguns

métodos tecnológicos de processamento, como a sanitização e entre outros, podem reduzir o conteúdo de fitato na casca de pitaya vermelha (ROMANO e FERRANTI, 2018).

Observou-se que o teor de nitratos de  $0,10 \text{ mg.}100\text{g}^{-1}$  de amostra foi inferior a DRI recomendada de nitrato Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (EFSA) de  $3,7 \text{ mg.kg.dia}^{-1}$  nitratos (TAMER, SUNA e ÖZCAN-SINIR, 2019). O consumo excessivo de nitrato pode causar cianose decorrente da formação de metamioglobina e neoplasia a partir da formação de compostos N-nitrosos, além de interferir no metabolismo da vitamina A e nas funções da glândula tireoide (NATESH, ABBEY e ASIYEDU, 2017).

O oxalato apresentou-se valor com baixo limiar de toxicidade ( $0,03 \text{ mg.}100\text{g}^{-1}$ ), sendo que sua dose mínima considerada letal para adultos é em torno de 5 g (SINHA e KHARE, 2017). O elevado teor de ácido oxálico influencia na absorção de minerais como cálcio, magnésio, sódio, potássio, e desempenha papel-chave na hiperoxalúria, com formação de cálculos de oxalato de cálcio nos rins (HIGASHIJIMA et al., 2019).

O valor de saponinas na casca de pitaya vermelha apresentou-se de  $1,71 \text{ g.}100\text{g}^{-1}$ . De acordo Romano e Ferranti (2018) valores acima de  $1,1 \text{ mg.g}^{-1}$  de saponinas pode reduzir a palatabilidade do fruto devido ao sabor amargo. O excesso de saponinas pode interferir na absorção do ferro, zinco, carboidratos, lipídios e proteínas, e inibem a atividade de enzimas digestivas (HIGASHIJIMA et al., 2019). Entretanto, até o presente momento não foram observados na literatura, registros do seu limite máximo diário aceitável na dieta humana.

## **5.2. Investigação da citotoxicidade do extrato hidroetanólico concentrado da casca (EH\_C) de pitaya vermelha**

Avaliou-se o ensaio de toxicidade utilizando microcrustáceo *Artemia Salina L.* com o intuito de calcular a DL50 (dose letal do extrato para 50% da população). Observou-se que o EH\_C de pitaya vermelha não apresentou atividade biológica contra *Artemia Salina L.* com DL50 de  $2484,74 \mu\text{L.mL}^{-1}$  e com limites variando de  $1634,65$  a  $3334,83 \mu\text{L.mL}^{-1}$ .

Os resultados demonstram que os EH\_C de pitaya vermelha são consideradas não tóxicas de acordo valores de  $DL50 > 1.000 \mu\text{L.mL}^{-1}$  (MEYER et al., 1982; NGUTA et al., 2012). Segundo Lima et al. (2019) pode-se considerar o bioensaio da *Artemia Salina L.* como um meio preliminar para determinar a biodisponibilidade dos extratos e não a toxicidade real do produto. Assim, constata-se que os EH\_C podem ser utilizados na elaboração das formulações de isotônicos.

### 5.3. Caracterização físico-química das matérias-primas (“mel de cacau” e casca e polpa de pitaya vermelha)

Os valores médios da caracterização físico-química do “mel de cacau” estão apresentados na Tabela 11. Esta avaliação de composição se faz necessária por interferir nas características finais de qualidade das formulações dos isotônicos, podendo também ser influenciada pelas características de composição da polpa e casca de pitaya vermelha que serão adicionadas.

**Tabela 11.** Caracterização físico-química do “mel de cacau”.

Composição	Valores médios $\pm$ desvio padrão
pH	3,90 $\pm$ 0,03
ATT (meq de NaOH.100 g <sup>-1</sup> )	0,43 $\pm$ 0,03
SST (°Brix)	18,3 $\pm$ 0,13
Açúcar total (g.100g <sup>-1</sup> )	8,18 $\pm$ 0,00
Açúcar redutor (g.100g <sup>-1</sup> )	7,41 $\pm$ 0,02
Açúcar não redutor (g.100g <sup>-1</sup> )	0,76 $\pm$ 0,05
Proteína (g.100mL <sup>-1</sup> )	0,50 $\pm$ 0,04
Lipídeos (g.100mL <sup>-1</sup> )	0,63 $\pm$ 0,01

FONTE: Dados autor (2020).

O “mel de cacau” apresentou pH de 3,9 e acidez titulável, expressa em ácido cítrico, 0,43 meq de NaOH.100g<sup>-1</sup> de amostra. Santos et al. (2013) ao caracterizar o “mel de cacau” para aproveitamento industrial no preparo de geleia sem adição de açúcar, observaram pH 3,6 e 0,07 meq.NaOH<sup>-1</sup>. Melo Neto et al. (2016) ao avaliarem as características físico-químicas do “mel de cacau”, encontraram pH 2,76 e acidez 0,073 % em ácido cítrico. Figueroa, García e Vega (2019) relataram pH 3,75 deste coproduto do cacau. O valor do pH pode ser influenciado pela variedade do cacau, maturação do fruto, época de colheita e pela presença de ácidos orgânicos (MEERSMAN et al., 2017). Segundo Anvoh, Zoro Bi e Gnakri (2009) os ácidos presentes no coproduto do cacau, como ácido cítrico e acético, conservam a cor e sabor da sua polpa, e destacam o baixo pH e elevada acidez na preservação da qualidade microbiológica da mucilagem, protegendo-o de bactérias não acidófilas.

O teor de sólidos solúveis totais do “mel de cacau” foi 18,3 °Brix superior ao valor encontrado por Silva et al. (2014) de 11,5 °Brix e por Figueroa, García e Vega (2019) de 16,17 °Brix. De acordo Balladares et al. (2016), o “mel de cacau” da costa Equatoriana apresentou

19,6 °Brix. O teor de SST representa o conteúdo de sólidos dissolvidos, constituído de açúcares solúveis, ácidos orgânicos e outros micronutrientes (MARROQUIM et al., 2019). O conteúdo de açúcares totais no “mel de cacau” foi 8,18 g.100g<sup>-1</sup>, com maior proporção de açúcares redutores de 7,31 g.100g<sup>-1</sup>. Balladares et al. (2016) observaram teor de açúcares redutores de 6,39% e o teor total de açúcares de 12,33% no “mel de cacau”. O elevado teor de SST e de açúcares redutores favorecem o aproveitamento do “mel de cacau” na indústria de bebidas com a substituição parcial da adição de açúcar refinado.

Os valores de proteína (0,50 g.100 mL<sup>-1</sup>) e lipídeos (0,63 g.100 mL<sup>-1</sup>) do “mel de cacau” corroboram ao encontrado por Figueroa, García e Vega (2019) 0,53% de proteína e 1% de lipídeos, em seu artigo de revisão sobre os aspectos gerais e aproveitamento dos coprodutos do cacau.

Os teores médios de conteúdo mineral presente no “mel de cacau” estão apresentados na Tabela 12. Observa-se que o “mel de cacau” se destaca pelos valores expressivos de potássio (115,45 mg.100mL<sup>-1</sup>) e magnésio (30,40 mg.100mL<sup>-1</sup>), que contribuirá no conteúdo dos eletrólitos dos isotônicos, e conseqüentemente, na osmolaridade. Esse resultado corrobora ao relatado por Figueroa, García e Vega (2019), que destacam maiores níveis de potássio (950 mg.L<sup>-1</sup>), cálcio (171,5 mg.L<sup>-1</sup>) e magnésio (82,5 mg.L<sup>-1</sup>) nesse coproduto do cacau.

**Tabela 12.** Teores médios da composição mineral do "mel de cacau".

<b>Elemento</b>	<b>Teor médio ± desvio padrão (mg.100mL<sup>-1</sup>)</b>
Ferro	0,11 ± 0,02
Magnésio	30,40 ± 0,95
Potássio	155,45 ± 20,65
Sódio	5,96 ± 0,0001
Zinco	0,21 ± 0,01

FONTE: Dados autor (2020).

Assim, verifica-se que o “mel de cacau” contém uma quantidade significativa de vários nutrientes, como açúcar, gorduras, proteínas e minerais, que influenciará na composição nutricional, e conseqüentemente, na determinação da osmolaridade das formulações de isotônicos.

A caracterização físico-química dos extratos hidroetanólicos (EH) concentrados dos frutos da pitaya vermelha está descrito na Tabela 13.

**Tabela 13.** Valores médios  $\pm$  desvio padrão da caracterização físico-química dos extratos hidroetanólicos concentrados da casca (EH\_C) e polpa (EH\_P) de pitaya vermelha.

Parâmetros	EH_C	EH_P
pH	4,81 $\pm$ 0,010	4,30 $\pm$ 0,010
ATT (meq de NaOH.100g <sup>-1</sup> )	0,05 $\pm$ 0,002	0,17 $\pm$ 0,004
SST (°Brix)	4,22 $\pm$ 0,030	14,13 $\pm$ 0,12

FONTE: Dados autor (2020).

Os valores de pH encontrados para EH\_P e para o EH\_C de pitaya vermelha foram de 4,30 e 4,81, respectivamente, e corroboram com os observados por Abreu et al. (2012), ao avaliarem casca e polpa de pitaya vermelha (*Hylocereus polyrhizus*), 4,76 e 4,88, respectivamente. Santos et al. (2019) encontraram faixa de pH 4,88 a 4,47 para polpa e pH 4,40 a 4,34 para casca, ao determinarem o efeito do processamento no fruto. O valor pH pode estar relacionado com o tempo de deterioração, através do desenvolvimento de microrganismos, na retenção do sabor-odor das frutas e na estabilidade do pigmento betalaina na faixa de pH 3 a 7 (LIMA et al., 2013).

Os frutos de pitaya vermelha são considerados como produtos pouco ácidos (pH > 4,5) e ácidos (pH 4,0 - 4,5). O teor de acidez total obtido para o EH\_P (0,17 meq de NaOH.100g<sup>-1</sup>) foi superior ao do EH\_C (0,05 meq de NaOH.100g<sup>-1</sup>), expressos em gramas de ácido málico da amostra. Santos et al (2019) encontraram valor de acidez superior na casca (0,41% ácido málico) do que na polpa (0,33% ácido málico) de pitaya vermelha. A diferença dos resultados da acidez titulável nos extratos é atribuído, possivelmente ao conteúdo de açúcares solúveis presentes na polpa de pitaya, que está diretamente ligado ao estágio de maturação, e o armazenamento pode contribuir na redução da concentração de ácidos orgânicos (DUARTE et al., 2017).

Como mostra os resultados de SST, o EH\_P (14,13 °Brix) foi superior ao EH\_C (4,22 °Brix), concordantes aos valores encontrados por Abreu et al. (2012) 11 °Brix para polpa e 2,16 °Brix para casca. Segundo Duarte et al. (2017), os teores de sólidos solúveis da polpa de pitaya, variam de 10 °Brix a 24 °Brix, resultado que está diretamente relacionado ao estágio de maturação do fruto, quanto maior o teor de sólidos, mais maduro estará o fruto, e às condições de cultivo relacionadas ao clima e tipo de solo.

#### 5.4. Caracterização química e capacidade antioxidante das matérias-primas (“mel de cacau” e EH\_C e EH\_P de pitaya vermelha)

Os valores médios da caracterização química e capacidade antioxidante do “mel de cacau” e na pitaya vermelha estão apresentados na Tabela 14. Observa-se que o “mel de cacau” se destacou no conteúdo de CFT de 196,00 mg EAG.100g<sup>-1</sup>, podendo demonstrar que contém características antioxidante. De acordo Silva et al. (2014) o conteúdo fenólico total do “mel de cacau” apresentou-se valores crescentes entre 101,5 e 1200 mg EAG.100g<sup>-1</sup>, conforme aumento de sua concentração de 20 a 50 mg.

O CFT extraídos dos EH\_C (28,36 mg EAG.100g<sup>-1</sup>) e EH\_P (32,02 mg EAG.100g<sup>-1</sup>) corroboram com os resultados de Wu et al. (2006) que encontraram fenólicos totais extraídos da pitaya vermelha (42 mg EAG.100g<sup>-1</sup> na polpa e 39,7 mg EAG.100g<sup>-1</sup> na casca) com acetona 80% como solvente. Leong et al. (2018) relataram que os extratos liofilizados de casca e polpa de pitaya vermelho-púrpura apresentaram 53,06 mg EAG.100g<sup>-1</sup> e 56,38 mg EAG.100g<sup>-1</sup> de extrato bruto, respectivamente. As diferenças no CFT observadas nos vários estudos provavelmente ocorreram devido à utilização de frutos com diferentes origens, grau de maturação e método de obtenção dos extratos.

**Tabela 14.** Valores médios  $\pm$  desvio padrão da caracterização química e capacidade antioxidante do “mel de cacau”, EH\_C e EH\_P de pitaya vermelha.

Parâmetros	“Mel de cacau”	EH_C	EH_P
CFT (mg EAG.100 g <sup>-1</sup> )	196,00 $\pm$ 3,84	28,36 $\pm$ 0,12	32,05 $\pm$ 1,15
Flavonoides totais (mg catequina.100 g <sup>-1</sup> )	12,34 $\pm$ 0,82	-	-
Betanina (mg.100 mL <sup>-1</sup> )	-	10,17 $\pm$ 1,80	56,19 $\pm$ 2,61
Indicaxantina (mg.100 mL <sup>-1</sup> )	-	4,76 $\pm$ 1,02	2,27 $\pm$ 0,95
DPPH (CE <sub>50</sub> mg.mL <sup>-1</sup> )	0,60 $\pm$ 0,33	0,05 $\pm$ 0,03	0,03 $\pm$ 0,02
Poder redutor (CE <sub>50</sub> mg.mL <sup>-1</sup> )	0,14 $\pm$ 0,01	0,52 $\pm$ 0,06	66,83 $\pm$ 8,12
$\beta$ -caroteno e ácido linoleico (%I)	58,02 $\pm$ 0,02	90,98 $\pm$ 0,02	68,04 $\pm$ 0,01

FONTE: Dados autor (2020).

Em relação aos flavonoides totais, realizou-se apenas a análise do “mel de cacau” por ser a matéria-prima base para a elaboração das formulações de isotônicos e por ainda ser restrito estudos sobre este coproduto do cacau. O valor médio foi 12,34 mg.100 g<sup>-1</sup> expresso em catequina. Quanto aos teores de flavonoides na pitaya vermelha, Wu et al. (2006) encontraram valor de 7,21 mg.100 g<sup>-1</sup> nos extratos da polpa e 8,33 mg.100 g<sup>-1</sup> da casca, expressos em

catequina. Diante disso, a combinação destas matérias-primas favorecerá o conteúdo de flavonoides nas formulações que contribuirá na qualidade sensorial e características funcionais dos isotônicos.

A concentração de betacianina, pigmento responsável pela coloração vermelho-púrpura da pitaya vermelha, expressa em betanina, apresentou teores mais expressivos no EH\_P (56,19 mg.100 mL<sup>-1</sup>) que no EH\_C (10,17 mg.100 mL<sup>-1</sup>). Entretanto, o resultado de betacaxantina expressos em equivalente de indicaxantina, coloração amarelo-alaranjado, apresentou-se superiores no EH\_C (4,76 mg.100 mL<sup>-1</sup>) em relação ao EH\_P (2,27 mg.100 mL<sup>-1</sup>).

Ramli, Ismail e Rahmat (2014) quantificaram teor de betanina na pitaya vermelha e verificaram valores nos EH\_P de 71,34 mg.100 g<sup>-1</sup> e nos EH\_C de 17,64 mg.100 g<sup>-1</sup>. Leong et al. (2018) ao determinar conteúdo de betanina, também encontraram valores superiores no extrato da polpa (23,01 mg.100 g<sup>-1</sup>) que da casca (7,57 mg.100 g<sup>-1</sup>). A diferença de valores desses pigmentos pode ser afetada pelas técnicas de preparação e obtenção dos extratos associado aos múltiplos fatores de degradação, como pH, atividade de água, luz, íons de oxigênio, temperatura e reações enzimáticas.

A partir desses resultados, pode-se demonstrar que a atuação antioxidante das moléculas de betalaina varia de acordo suas estruturas químicas, sendo a indicaxantina menos eficaz em eliminar os radicais livres que a betanina nas reações de proteção contra certos distúrbios relacionados ao estresse oxidativo (BELHADJ SLIMEN, NAJAR e ABDERRABBA, 2017). Assim, o EH\_P apresentou teor consideráveis de betanina que melhor contribuiu para capacidade antioxidante das formulações de isotônicos.

Avaliou-se o potencial antioxidantes pelos métodos DPPH, poder de redução dos íons ferro e percentual de inibição da oxidação acoplada do β-caroteno e ácido linoleico. Os resultados expressos em concentração efetiva (CE<sub>50</sub>) demonstraram que é necessário 0,60 mg.mL<sup>-1</sup> de “mel de cacau” para reduzir em 50% a concentração inicial do radical livre DPPH, e de 0,14 mg.mL<sup>-1</sup> de amostra para reduzir o Fe<sup>3+</sup> à Fe<sup>2+</sup>. Silva et al. (2014) observaram capacidade antioxidante pelo DPPH de 6,34 g extrato.g<sup>-1</sup> do “mel de cacau”. Assim, esses resultados indicam uma alta capacidade antioxidante na matéria-prima estudada, fator favorável para dá essa característica às formulações de isotônicos.

A pitaya vermelha apresentou melhor capacidade antioxidante ao considerar o método DPPH por necessitar de menor quantidade de amostra, 0,03 mg.mL<sup>-1</sup> do EH\_P e 0,05 mg.mL<sup>-1</sup> da EH\_C. Mahayothee et al. (2018) ao avaliarem a capacidade antioxidante em frutos de pitaya vermelha pelo método DPPH, verificaram valor de 4,22 a 6,42 g.100g<sup>-1</sup> de peso seco da polpa. O EH\_P apresentou melhores características antioxidante que EH\_C devido ao seu maior conteúdo fenólico e teor de betanina. Segundo Wu et al. (2006) o conteúdo fenólico influencia

sua a capacidade antioxidante devido à presença desses polifenóis, podendo interferir no processo de oxidação reagindo com os radicais livres e eliminando o oxigênio.

De acordo a oxidação acoplada do  $\beta$ -caroteno e ácido linoleico, o EH\_C de pitaya se destacou em relação ao EH\_P da fruta e ao “mel de cacau” por apresentar potencial de inibição e/ou redução as reações de oxidação em 90,98%. Abreu et al. (2012) verificaram que o extrato da casca de pitaya vermelha, em solução de acetona 70%, apresentou percentual de inibição de aproximadamente 80%. Conforme Martins et al. (2019), pode-se considerar alta capacidade antioxidante por este método quando o percentual de inibição de oxidação for maior que 70%. Assim, pode-se inferir que o EH\_C apresenta expressiva capacidade antioxidante que associado às demais matérias-primas influenciou nas características antioxidante das formulações de isotônicos.

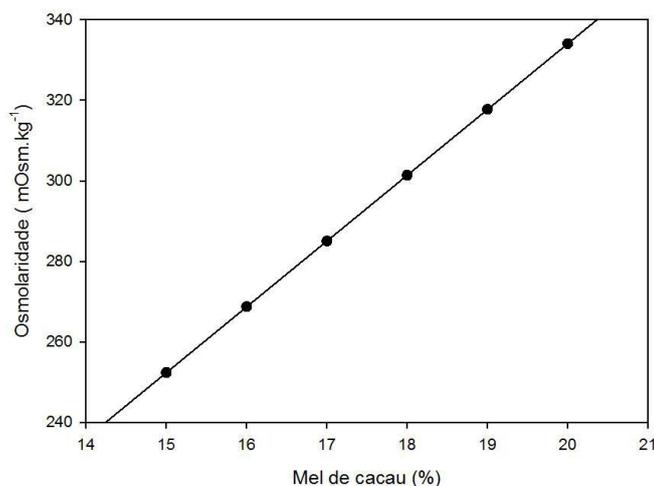
### **5.5. Elaboração das formulações de isotônicos**

Avaliou-se a influência da adição de “mel de cacau” na osmolaridade das formulações das bebidas isotônicas através de análise de regressão e os resultados foram modelados estatisticamente. A osmolaridade apresentou efeito crescente à medida que se aumentou a concentração de 1% do “mel de cacau” e observou-se a falta de ajuste não significativa ( $p > 0,05$ ).

A partir do modelo gerado foi ajustada a equação ( $\hat{Y} = 16,334x + 7,3611$ ), com coeficiente de determinação ( $R^2 = 0,9915$ ), e plotado o gráfico (Figura 10) de osmolaridade em função da concentração de “mel de cacau”.

A partir desses resultados, apenas cinco foram selecionadas (17%, 18%, 19%, 20% e 21%) para realizar a caracterização físico-química, química e antioxidante. As formulações apresentaram valores de osmolaridade dentro da faixa recomendada pela FAO/WHO (2019), a qual estabelece valores entre 250 a 340 mOsm.kg<sup>-1</sup>. Além disso, priorizou-se essas formulações por apresentar maior percentual de “mel de cacau” com objetivo de substituir parcialmente o açúcar refinado, realçar o sabor do fruto e agregar atributos nutricionais e funcionais.

**Figura 10.** Representação gráfica da concentração de “mel de cacau” nas formulações dos isotônicos em relação aos valores da osmolaridade.



FONTE: Dados autor (2020).

## 5.6. Caracterização físico-química das formulações de isotônicos

Avaliou-se a composição físico-química das formulações de isotônicos e os resultados (Tabela 15) foram ajustados por meio de modelos estatísticos testados quanto à sua significância ( $p < 0,05$ ), falta de ajuste não significativa ( $p > 0,05$ ) e coeficientes de determinação ( $R^2$ ).

Para as variáveis pH, SST e coordenadas de cor não houve ajuste de modelo linear ou quadrático significativo ( $p > 0,05$ ).

A partir dos valores das médias, verificou-se que apenas a variável osmolaridade apresentou efeito linear crescente ( $p < 0,05$ ) em sua composição à medida em que se aumentou a proporção do “mel de cacau”. Observou-se que os isotônicos apresentaram faixa de osmolaridade de 277,92 a 335,70 mOsm.kg<sup>-1</sup> estando de acordo ao recomendado pela FAO/WHO (2019), a qual estabelece valores entre 250 a 340 mOsm.kg<sup>-1</sup>.

Estudos com valores de osmolaridade semelhantes ao nosso estudo foram realizados por Bovi, Petrus e Pinho (2017) verificaram osmolaridade de 303 mOsm.kg<sup>-1</sup> ao produzirem bebida isotônica de tangerina incorporada com nanoemulsões do óleo de buriti como substituto de corantes sintéticos. Porfirio et al. (2019) observaram valores de 281,31 e 328,41 mOsm.kg<sup>-1</sup> em duas formulações de bebidas isotônicas a base de extratos hidroetanólicos concentrados da casca e polpa de jabuticaba, com adição de 4 e 6 % de sacarose, respectivamente.

Assim, constata-se com esse estudo que foi possível elaborar uma nova proposta de formulações de isotônico a base de frutas contendo apenas 2 % de sacarose e atingir a um teor de osmolaridade exigido pela legislação (FAO/WHO, 2019).

Os teores de acidez apresentaram resultados com comportamento quadrático entre as formulações de isotônicos. Observou-se um aumento no valor da acidez a medida que se adicionou o “mel de cacau”, de 0,07 meq.NaOH.100g<sup>-1</sup> (expresso em ácido cítrico) até atingir um ponto máximo de 0,11 meq.NaOH.100g<sup>-1</sup> na F4. Este comportamento pode estar relacionado à acidez titulável do “mel de cacau” associado aos níveis de ácidos orgânicos presentes nos isotônicos.

Santos, Alves e Lima (2013) ao estudarem três formulações de bebida isotônica de tangerina, verificaram acidez titulável entre 0,13 e 0,21 mg.100 g<sup>-1</sup> de ácido cítrico. Porfirio et al. (2019) encontraram valores de acidez variando de 0,67 a 0,78 mg.100g<sup>-1</sup> de ácido cítrico, nas bebidas isotônicas de 10 e 12% de extratos hidroetanólicos concentrados da polpa de jabuticaba. Diante disso, os estudos revelam que os isotônicos apresentam alta acidez, com níveis podendo variar de 0,1 a 0,80 %.

Nesse contexto, verifica-se que os isotônicos têm como característica intrínseca o baixo pH (< 4,0), sendo que nesse estudo (pH 3,51) a presença do “mel de cacau”, dos extratos hidroetanólicos concentrados da pitaya vermelha, conservantes e acidificação com o ácido cítrico nas formulações provavelmente contribuíram para esse resultado. Gironés-Vilaplana et al. (2013) observaram valor de pH de 3,15 e 3,46 ao avaliarem isotônicos comerciais Gatorade® e Powerade®, respectivamente. Esses valores garantem a segurança da bebida, tornando-a protegida à proliferação de bactérias patogênicas, incluindo *Clostridium botulinum*, uma vez que o pH mínimo para a multiplicação de cepas varia entre 4,6 e 4,8 (PORFIRIO et al., 2019).

O teor médio de sólidos solúveis (SST) nas formulações de 6,81 °Brix foi superior aos valores observados por Fontes et al. (2015) de 5,6 °Brix e por Ferreira et al. (2018) de 5,83 °Brix ao elaborarem bebidas isotônicas a base de permeado da ultrafiltração de leite. De acordo Gironés-Vilaplana et al. (2012) a combinação de frutos favorece o aumento do teor de SST em isotônicos, como verificado na bebida apenas com suco de limão (7,20 °Brix) e limão e mequi berry (8,40 °Brix). Assim, o valor considerável de SST nas formulações dos isotônicos foi favorecido pelo conteúdo de sais minerais, ácidos orgânicos e açúcares dissolvidos presentes no “mel de cacau” e nos extratos hidroetanólicos concentrados da pitaya vermelha.

Quanto aos resultados de colorimetria, não houve diferença significativa entre os isotônicos formulados (Tabela 15). Os resultados médios positivos observados para o parâmetro L\* indicam que os isotônicos apresentaram pouca luminosidade, ou seja, as bebidas

tenderam ser mais escuras. O parâmetro  $a^*$ , corresponde à faixa de cores que varia de verde a vermelho, o seu valor médio positivo indica que a cor das formulações se aproximou mais do eixo da cromaticidade do vermelho. O parâmetro  $b^*$ , que representa a faixa de cores de azul a amarelo, apresentou valores negativos, indicando que a cor dos isotônicos tendem ao azul.

A saturação ( $c^*$ ) indica a intensidade de uma cor particular, representando a pureza da cor em relação ao branco. Os resultados das formulações apresentaram valores baixos, indicando cores menos saturadas e puras em relação ao branco. Os valores de  $h^*$  representam a tonalidade da cor, quanto menor o ângulo  $h^*$  mais próximo estará do eixo da coordenada  $a^*$ , e com isso mais vermelha será a coloração. Os valores baixos e negativos dos isotônicos obtidos para a tonalidade, demonstram que a cor das bebidas se aproxima da faixa entre o vermelho e o azul. Segundo Leong et al. (2018) o extrato da polpa da pitaya vermelha que mais contribui para proximidade da cor vermelho a azul em comparação com extrato da casca. Assim, tanto os extratos da casca quanto polpa poderiam ser aplicados como corante vermelho natural em diferentes tons e intensidades, substituindo assim os corantes sintéticos.

Diante disso, pode-se inferir que os isotônicos são translúcidos e a sua cor se aproxima ao vermelho púrpura, coloração predominante na polpa da pitaya vermelha, devido à presença do pigmento betalaína, embora visualmente as formulações apresentaram uma coloração rosa, podendo ser atribuído a diluição. Portanto, a cor é uma característica sensorial crucial que desencadeia a primeira resposta do consumidor em contato com o produto.

**Tabela 15.** Características físico-químicas dos isotônicos formulados com diferentes porcentagens de "mel de cacau".

Variáveis	Formulações					Equações	R <sup>2</sup>
	F1	F2	F3	F4	F5		
pH	3,60±0,01	3,49±0,03	3,51±0,02	3,60±0,00	3,36±0,01	$\hat{Y}=Y=3,51\pm 0,01$	***
Acidez titulável (meq.NaOH.100g <sup>-1</sup> )	0,07±0,01	0,10±0,00	0,11±0,00	0,11±0,01	0,11±0,01	$\hat{Y}=-0,006x^2+0,232x-2,182$	0,86
SST (°Brix)	6,68±0,10	6,70±0,13	7,00±0,20	6,82±0,18	6,83±0,03	$\hat{Y}=Y=6,82\pm 0,13$	***
Osmolaridade (mOsm.kg <sup>-1</sup> )	277,92±5,32	291,55±4,27	302,46±4,54	319,44±6,55	335,70±6,65	$\hat{Y}=13,68x+45,51$	0,79
<b>Análise de cor</b>							
L*	26,04±0,87	25,26±1,03	26,20±1,18	25,69±1,25	26,29±1,06	$\hat{Y}=Y=25,90\pm 1,08$	***
a*	5,46±0,70	5,95±0,81	5,68±0,85	6,89±1,49	5,35±0,63	$\hat{Y}=Y=5,87\pm 1,08$	***
b*	-0,52±0,18	-1,18±0,66	-0,64±0,14	-0,72±0,19	0,50±0,15	$\hat{Y}=Y=-0,51\pm 0,26$	***
c*	5,05±0,63	6,10±0,63	5,80±0,65	7,01±1,28	5,41±0,52	$\hat{Y}=Y=5,96\pm 0,74$	***
h*	-0,10±0,02	-0,21±0,04	-0,13±0,02	-0,13±0,02	-0,10±0,05	$\hat{Y}=Y=-0,09\pm 0,03$	***

FONTE: Dados autor (2020).

NOTA: F1= formulação com 17% de “mel de cacau” e 1% de extrato da casca e polpa de pitaya; F2= formulação com 18% de “mel de cacau” e 1% de extrato da casca e polpa de pitaya; F3= formulação com 19% de “mel de cacau” e 1% de extrato da casca e polpa de pitaya; F4 = formulação com 20% de “mel de cacau” e 1% de extrato da casca e polpa de pitaya; F5= formulação com 21% de “mel de cacau” e 1% de extrato da casca e polpa de pitaya. \*\*\*não houve parâmetro significativo (p>0,05) para o modelo linear ou quadrático. R<sup>2</sup> refere-se ao coeficiente de determinação calculado em relação a SQTRAT.

## 5.7. Composição nutricional das formulações de isotônicos

A composição nutricional das formulações de isotônicos foram avaliadas conforme a adição dos diferentes percentuais de “mel de cacau”. Os resultados (Tabela 16) foram ajustados por meio de modelos estatísticos testados quanto à sua significância ( $p < 0,05$ ), falta de ajuste não significativa ( $p > 0,05$ ) e coeficientes de determinação ( $R^2$ ).

Para os conteúdos de açúcar total, açúcar não redutor, proteína, lipídeos e valor calórico total, constatou-se não haver modelo de regressão linear ou quadrático significativo ( $p > 0,05$ ), indicando não existir diferença estatística entre as formulações de isotônicos.

Quanto aos teores médios de açúcar redutor observou-se um comportamento quadrático entre as formulações. Indicando que a quantidade considerável de açúcar redutor presente no “mel de cacau” contribuiu satisfatoriamente com os teores encontrado nas formulações, F2 ( $1,18 \text{ g} \cdot 100 \text{ mL}^{-1}$ ) para F5 ( $1,25 \text{ g} \cdot 100 \text{ mL}^{-1}$ ). Desta forma, verifica-se que a utilização desse coproduto do cacau pode garantir a substituição parcial do açúcar refinado as formulações de isotônicos, sendo promissor o seu aproveitamento na indústria de bebidas. No entanto, o valor médio de açúcares não redutores encontrado foi maior ( $4,87 \text{ g} \cdot 100 \text{ mL}^{-1}$ ) isso justifica-se pela quantidade de sacarose adicionada às formulações.

Destaca-se que este é o primeiro estudo na literatura, associando a adição extratos de polpa e casca de frutas e adição do mel de cacau em substituição parcial da adição de sacarose. Tornando-se assim, uma proposta inovadora para indústria de isotônicos, até então ainda não explorado.

Além disso, o aproveitamento do “mel de cacau” como substituto parcial do açúcar nos isotônicos não interferiu na concentração máxima de carboidratos totais estabelecido pela legislação, 3 a 10% (FAO/WHO, 2019). As formulações apresentaram valor médio 6,01% de açúcar total corroborando com valores encontrados por Porfirio et al. (2019) ao quantificar carboidratos totais dos isotônicos comerciais Gatorade® (6,0%) e Marathon® (6,02%).

Os teores médios de proteínas das formulações de isotônicos foram de  $0,15 \text{ g} \cdot 100 \text{ mL}^{-1}$  e para os lipídeos observou-se níveis de  $0,14 \text{ g} \cdot 100 \text{ mL}^{-1}$ , contribuindo para o elevado valor calórico médio de  $25,85 \text{ kcal} \cdot 100 \text{ mL}^{-1}$ . Esse resultado já era esperado devido à composição nutricional do “mel de cacau” que interferiu diretamente no valor calórico dos isotônicos. Estudos revelam que o valor calórico dos isotônicos a base de frutas e comerciais variam de 15 a  $24 \text{ kcal} \cdot 100 \text{ mL}^{-1}$  (FERREIRA et al., 2019; PORFIRIO et al., 2019).

Marapana, Chandrasekara e Aponso (2017) encontraram teores de proteínas de 0,09% e lipídeos de 0,01% ao elaborarem isotônicos com água de coco, com valor energético de 22

kcal.100g<sup>-1</sup>. Porfirio et al. (2019) relataram que os isotônicos comerciais Gatorade® e Marathon® não apresentam proteína nem lipídeos nas suas composições conforme informação de seus rótulos, sendo o valor calórico de 24 kcal.100mL<sup>-1</sup> determinado apenas pelo conteúdo de açúcares totais.

Em relação aos micronutrientes, foram realizadas as análises eletrólitos que têm papel importante osmolaridade dos isotônicos e que geralmente são perdidos pela transpiração durante a prática do exercício físico de longa duração. Dos minerais estudados, o sódio e o potássio são os eletrólitos perdidos em maior quantidade, por isso têm concentrações estabelecidas pela legislação (GERALDINI et al., 2017; SIMULESCU et al., 2018).

Os teores de sódio nas formulações apresentaram um comportamento quadrático à medida que se adicionou o “mel de cacau” às formulações. A sua concentração nos isotônicos variou de 43,49 a 51,42 mg.100mL<sup>-1</sup>, atendendo os valores estabelecidos pela legislação de 230 a 920 mg.L<sup>-1</sup> (FAO/WHO, 2019). Marapana, Chandrasekara e Aponso (2017) encontraram valor de 462 mg.L<sup>-1</sup> em isotônico elaborado com água de coco. Porfirio et al. (2019) identificaram valores de 59,4 e 61,4 mg.100mL<sup>-1</sup> em bebidas isotônicas a base de extratos hidroetanólicos concentrados de casca e polpa de jabuticaba, e observaram valores de sódio variando de 29 a 50 mg.100mL<sup>-1</sup> em quatro marcas de isotônicos comerciais.

A quantificação do conteúdo de sódio em isotônicos torna-se necessária, pois sua concentração pode ser reduzida no sangue durante ou imediatamente após o exercício físico induzindo a hiponatremia. Além disso, a combinação desse mineral com o potássio em isotônicos pode prevenir câimbras musculares, aspecto importante para melhorar o desempenho do atleta (SIMULESCU et al., 2018).

O potássio pode auxiliar na contração muscular, bem como manter o equilíbrio eletrolítico e regular a pressão arterial. No “mel de cacau”, este mineral foi o elemento mais abundante podendo justificar o efeito linear crescente do modelo estatístico. Os isotônicos elaborados apresentaram valores de potássio de 50,85 a 78,54 mg.100mL<sup>-1</sup> superiores aos encontrados em isotônicos comerciais (10 a 12,5 mg.100mL<sup>-1</sup>), no entanto, atendem às recomendações da legislação brasileira. Segundo a ANVISA, as bebidas isotônicas podem conter concentração de potássio até 700 mg.L<sup>-1</sup> (BRASIL, 2010).

Assim o consumo dos isotônicos formulados podem contribuir para as necessidades diárias de homens e mulheres adulto em 1,37% de potássio e 3,13% de sódio. Ao considerar a recomendação do Instituto Nacional de Saúde dos Estados Unidos (NHI, 2011), cujos valores estabelecidos para a Ingestão Diária Recomendada (IDR) para sódio é de 1500 mg e potássio de 4,7 g, para indivíduos adultos.

Os teores de ferro apresentaram um comportamento quadrático crescente ao adicionar o “mel de cacau” as formulações de isotônicos e seus valores variaram de 0,005 a 0,02 mg.100mL<sup>-1</sup>. Gironés-Vilaplana et al. (2013) ao avaliarem isotônicos comerciais, observaram teor de ferro de 0,03 mg.L<sup>-1</sup> no Gatorade® e 0,01 mg.L<sup>-1</sup> no Powerade®.

Os resultados do mineral zinco apresentaram um crescimento quadrático quando aumentou a proporção do “mel de cacau” nos isotônicos, tendo um valor máximo de 0,06 mg.100mL<sup>-1</sup> em F2 (18%) com leve tendência ao decréscimo em F4 (20%) para 0,05 mg.100mL<sup>-1</sup>. Segundo Gironés-Vilaplana et al. (2013), os isotônicos comerciais apresentaram quantidade de zinco de 0,09 mg.L<sup>-1</sup> no Gatorade® e 0,01 mg.L<sup>-1</sup> no Powerade®.

Para o magnésio não houve modelo de regressão linear ou quadrático significativo ( $p>0,05$ ), indicando não haver diferença estatística entre as formulações de isotônicos. Apenas o potássio apresentou modelo com efeito linear crescente ( $p<0,05$ ) em sua composição à medida que aumentou a proporção do “mel de cacau”.

O teor médio do magnésio foi de 8,87 mg.100 mL<sup>-1</sup>. De acordo Raizel et al. (2019), a presença deste mineral nos isotônicos torna-se importante para ajudar nas contrações musculares e para garantir a função muscular ideal. Gironés-Vilaplana et al. (2013) observaram valores de magnésio de 47,79 mg.L<sup>-1</sup> e 8,56 mg.L<sup>-1</sup> ao avaliarem isotônicos comerciais Gatorade® e Powerade®, respectivamente.

**Tabela 16.** Composição nutricional dos isotônicos formulados com diferentes porcentagens de “mel de cacau”.

Variáveis (g.100mL <sup>-1</sup> )	Formulações					Equações	R <sup>2</sup>
	F1	F2	F3	F4	F5		
Açúcar total	6,09±0,46	5,86±0,28	5,78±0,29	6,12±0,10	6,18±0,15	$\hat{Y}=Y=6,01\pm 0,26$	***
Açúcar redutor	1,48±0,44	1,18±0,18	1,25±0,41	1,18±0,04	1,25±0,02	$\hat{Y}=0,043x^2-1,666x+17,436$	0,76
Açúcar não redutor	4,61±1,24	5,02±1,24	4,86±0,82	4,90±0,02	4,94±0,15	$\hat{Y}=Y=4,87\pm 0,69$	***
Proteínas	0,12±0,09	0,14±0,09	0,16±0,10	0,17±0,11	0,14±0,11	$\hat{Y}=Y=0,15\pm 0,10$	***
Lipídeos	0,13±0,07	0,13±0,08	0,14±0,04	0,14±0,02	0,15±0,09	$\hat{Y}=Y=0,14\pm 0,03$	***
Valor calórico total (Kcal.100mL <sup>-1</sup> )	26,01±1,37	25,17±0,34	25,02±0,96	26,42±2,03	26,63±2,13	$\hat{Y}=Y=25,85\pm 1,37$	***
Ferro (mg.100mL <sup>-1</sup> )	0,005±0,003	0,01±0,001	0,01±0,00	0,01±0,001	0,02±0,002	$\hat{Y}=0,0008x^2-0,0275x+0,2383$	0,92
Magnésio (mg.100mL <sup>-1</sup> )	7,89±2,31	8,41±4,66	9,54±2,97	7,89±0,36	10,63±4,51	$\hat{Y}=Y=8,87\pm 2,96$	***
Sódio (mg.100mL <sup>-1</sup> )	48,69±1,81	45,10±0,28	43,49±0,003	46,44±0,08	51,42±0,57	$\hat{Y}=1,549x^2-58,178x+590,16$	0,94
Potássio (mg.100mL <sup>-1</sup> )	55,11±1,73	50,85±2,12	68,93±11,77	67,89±13,73	78,54±5,32	$\hat{Y}=6,391x-57,17$	0,81
Zinco (mg.100mL <sup>-1</sup> )	0,04±0,002	0,06±0,01	0,05±0,003	0,05±0,002	0,05±0,005	$\hat{Y}=-0,0017x^2+0,0667x-0,5976$	0,77

FONTE: Dados autor (2020).

NOTA: F1= formulação com 17% de “mel de cacau” e 1% de extrato da casca e polpa de pitaya; F2= formulação com 18% de “mel de cacau” e 1% de extrato da casca e polpa de pitaya; F3= formulação com 19% de “mel de cacau” e 1% de extrato da casca e polpa de pitaya; F4 = formulação com 20% de “mel de cacau” e 1% de extrato da casca e polpa de pitaya; F5= formulação com 21% de “mel de cacau” e 1% de extrato da casca e polpa de pitaya. \*\*\*não houve parâmetro significativo (p>0,05) para o modelo linear ou quadrático. R<sup>2</sup> refere-se ao coeficiente de determinação calculado em relação a SQTRAT.

## 5.8. Caracterização química e capacidade antioxidante das formulações de isotônicos

Para o conteúdo de constituintes fenólicos totais (CFT), flavonoides, betanina e indicaxantina não houve modelo de regressão linear ou quadrático significativo ( $p > 0,05$ ), indicando não haver diferença estatística entre as formulações de isotônicos para estas determinações. Os resultados estão apresentados na Tabela 17.

O teor médio de CFT nas formulações foi  $9,70 \text{ mg EAG} \cdot 100 \text{ mL}^{-1}$ , o que era esperado devido ao conteúdo de fenólicos das matérias-primas ser considerado baixo comparado a outros frutos, além disso a diluição necessária para o preparo dos isotônicos pode ter contribuído para esse resultado. Entretanto, o conteúdo de fenólico total dos isotônicos do presente estudo foi superior (aproximadamente 15 vezes) às bebidas isotônicas comerciais, *Gatorade*® ( $0,92 \text{ mg EAG} \cdot 100 \text{ mL}^{-1}$ ) e *Powerade*® ( $0,48 \text{ mg EAG} \cdot 100 \text{ mL}^{-1}$ ), conforme Gironés-Vilaplana et al. (2013).

As formulações apresentaram valor médio de flavonoides de  $4,06 \text{ mg} \cdot 100 \text{ mL}^{-1}$ , expressos em catequina, sendo que a maior proporção de “mel de cacau” favoreceu para este resultado. De acordo Das, Goud e Das (2019), os flavonoides desempenha um papel importante nas características sensoriais e antioxidantes das bebidas. Assim, pode-se inferir que a presença desses polifenóis nos isotônicos elaborados pode contribuir para seu potencial funcional.

Quanto aos teores de betalainas nas formulações testadas, observou-se teores médios de betanina ( $3,03 \text{ mg} \cdot 100 \text{ mL}^{-1}$ ) e de indicaxantina ( $1,69 \text{ mg} \cdot 100 \text{ mL}^{-1}$ ). Essa concentração de betanina contribuiu para a tonalidade dos isotônicos mais próxima ao vermelho, dados confirmados pela análise colorimétrica através do sistema de cor CieLab.

Com esses resultados, pode-se inferir a possibilidade de substituir os corantes sintéticos pelo corante natural, obtidos dos extratos de casca e polpa da pitaya vermelha. Além de obter formulações com uma cor mais atrativa aos consumidores, os isotônicos se destacam por apresentar características antioxidantes.

Nesse contexto, pode-se inferir que os isotônicos preparados com adição de “mel de cacau” e EH\_C e EH\_P apresentam compostos bioativos na sua composição que contribuem para suas características antioxidantes, diferente das bebidas comerciais isotônicas.

Para demonstrar a atuação dos compostos bioativos na inibição da peroxidação lipídica, foram realizadas análises in vitro da capacidade antioxidante das cinco formulações de isotônicos. Os métodos de determinação DPPH, poder redutor e o ensaio da oxidação aclopada de  $\beta$ -caroteno e ácido linoleico apresentaram modelos estatísticos com comportamento linear à medida que se adicionou o “mel de cacau”.

Os resultados expressos em  $CE_{50}$  determina a concentração de antioxidante para reduzir em 50% a concentração inicial de DPPH, ou a concentração mínima correspondente a 50% de absorvância para poder redutor, sendo que quanto menor o valor de  $CE_{50}$  maior a capacidade antioxidante das amostras.

Na análise de DPPH, as formulações de isotônicos apresentaram valores decrescentes de absorvância (0,09 a 0,03  $mg.mL^{-1}$ , expressos em  $CE_{50}$ ) à proporção que aumentava o percentual de “mel de cacau”, podendo demonstrar sua capacidade antioxidante mesmo em pequenas quantidades. Esse resultado foi favorecido pela combinação desse coproduto aos extratos hidroetanólicos concentrados da pitaya vermelha. De acordo Gironés-Vilaplana et al. (2013), os isotônicos comerciais não possuem capacidade antioxidante pelo método DPPH por apresentar resultados de 0,01 a 0,053 mM Trolox.

O método de poder de redução do ferro apresentou comportamento linear crescente das absorvâncias (0,47 a 0,93  $mg.mL^{-1}$ , expressos em  $CE_{50}$ ) ao adicionar o “mel de cacau”, o que não é favorável, embora concentrações mínimas dessa matéria-prima foi suficiente para reduzir o  $Fe^{3+}$  em  $Fe^{2+}$ .

Os resultados encontrados na oxidação acoplada do  $\beta$ -caroteno e ácido linoleico demonstraram que as formulações das bebidas isotônicas em baixas concentrações foram capazes de reduzir e/ou inibir as reações de oxidação, pois apresentou percentual de inibição crescente (74,82 para 82,81%) ao adicionar o “mel de cacau”. Conforme Martins et al. (2019), pode considerar alta capacidade antioxidante por este método quando o percentual de inibição de oxidação for maior que 70%. Assim, os isotônicos elaborados apresentaram elevado percentual de inibição, que foi favorecido não apenas ao “mel de cacau”, mas principalmente pelos EH\_C de pitaya vermelha. Portanto, o consumo dos isotônicos formulados neste presente estudo pode contribuir para a redução ou eliminação dos radicais livres gerados pelo estresse oxidativo durante a prática de exercício físico de longa duração.

Para o método de degradação oxidativa da 2-desoxi-D-ribose (2-DR), os resultados apresentaram comportamento quadrático ao aumentar a proporção de “mel de cacau”.

Determinou-se o ensaio da 2-desoxirribose para verificar a capacidade de compostos presentes nas formulações de isotônicos em proteger a desoxirribose contra a geração in vitro de radicais hidroxila. Os resultados apresentaram percentual de inibição de 60,92% em F1 e diminuiu para 50,28% em F5 e obteve-se um modelo com redução quadrática ao aumentar a proporção de “mel de cacau”.

Embora, observar uma redução dos percentuais de inibição, pode-se inferir possíveis efeitos de eliminação contra os radicais hidroxila ao consumir as formulações de isotônicos.

Esse comportamento pode ser explicado pela atividade pró-oxidativa das matérias-primas deste estudo, pois segundo Petrović et al. (2017), esse fenômeno geralmente acontece quando os extratos vegetais são ricos em polifenóis. Assim, é de grande importância avaliar o sequestro dos radicais hidroxila devido a seus efeitos nocivos nas membranas celulares, danos ao DNA e peroxidação lipídica (TORMA et al., 2017).

Nesse contexto, é importante utilizar diferentes ensaios para fornecer mais elucidação do perfil completo da capacidade antioxidante do produto. Pois, como vários mecanismos de reação estão envolvidos, uma única metodologia não quantifica todas as substâncias antioxidantes de um sistema complexo.

Diante do exposto, verificou-se que a ação antioxidante de um composto está diretamente relacionada aos constituintes bioativos presentes nos frutos (cacau e pitaya vermelha). Além disso, a concentração destes fitoquímicos no produto final, pode ser amplamente influenciado por condições ambientais, grau de maturação, variedade da planta, entre outros fatores.

**Tabela 17.** Valores médios  $\pm$  desvio padrão, equações de regressão ajustadas e coeficiente de determinação (R<sup>2</sup>) das características químicas e capacidade antioxidante das formulações de isotônicos.

Variáveis	Formulações					Equações	R <sup>2</sup>
	F1	F2	F3	F4	F5		
<b>Caracterização química</b>							
CFT (mg EAG.100 mL <sup>-1</sup> )	9,63 $\pm$ 0,66	9,36 $\pm$ 1,04	9,74 $\pm$ 0,21	9,69 $\pm$ 0,25	10,09 $\pm$ 0,42	$\hat{Y}=Y=9,71\pm 0,52$	***
Flavonoides (mg de quercetina.100 mL <sup>-1</sup> )	3,80 $\pm$ 1,70	3,84 $\pm$ 1,77	3,87 $\pm$ 1,51	4,36 $\pm$ 1,73	4,42 $\pm$ 1,70	$\hat{Y}=Y=4,06\pm 1,68$	***
Betanina (mg.100 mL <sup>-1</sup> )	3,85 $\pm$ 0,12	3,82 $\pm$ 0,12	2,67 $\pm$ 0,16	2,42 $\pm$ 0,05	2,37 $\pm$ 0,10	$\hat{Y}=Y=3,03\pm 0,11$	***
Indicaxantina (mg.100 mL <sup>-1</sup> )	2,04 $\pm$ 0,19	1,45 $\pm$ 0,41	1,88 $\pm$ 0,51	1,62 $\pm$ 0,41	1,45 $\pm$ 0,41	$\hat{Y}=Y=1,69\pm 0,38$	***
<b>Capacidade antioxidante</b>							
DPPH (CE <sub>50</sub> mg.mL <sup>-1</sup> )	0,09 $\pm$ 0,01	0,07 $\pm$ 0,00	0,05 $\pm$ 0,01	0,06 $\pm$ 0,01	0,03 $\pm$ 0,01	$\hat{Y}=-0,01x+0,28$	0,86
Poder redutor (CE <sub>50</sub> mg.mL <sup>-1</sup> )	0,47 $\pm$ 0,03	0,88 $\pm$ 0,35	0,73 $\pm$ 0,21	0,98 $\pm$ 0,35	0,93 $\pm$ 0,14	$\hat{Y}=0,10x-1,16$	0,62
Sistema $\beta$ -caroteno e ácido linoleico (%I)	74,82 $\pm$ 0,09	78,66 $\pm$ 4,51	80,34 $\pm$ 6,71	81,65 $\pm$ 3,36	82,91 $\pm$ 1,54	$\hat{Y}=1,92x+43,23$	0,93
2-DR (%I)	60,92 $\pm$ 1,55	65,36 $\pm$ 2,56	61,54 $\pm$ 4,40	59,44 $\pm$ 6,81	50,28 $\pm$ 2,27	$\hat{Y}=-1,819x^2+66,417x-541,984$	0,96

FONTE: Dados autor (2020).

NOTA: F1= formulação com 17% de “mel de cacau” e 1% de extrato da casca e polpa de pitaya; F2= formulação com 18% de “mel de cacau” e 1% de extrato da casca e polpa de pitaya; F3= formulação com 19% de “mel de cacau” e 1% de extrato da casca e polpa de pitaya; F4 = formulação com 20% de “mel de cacau” e 1% de extrato da casca e polpa de pitaya; F5= formulação com 21% de “mel de cacau” e 1% de extrato da casca e polpa de pitaya. \*\*\*não houve parâmetro significativo (p>0,05) para o modelo linear ou quadrático. R<sup>2</sup> refere-se ao coeficiente de determinação calculado em relação a SQTRAT.

## 5.9. Estabilidade das formulações de isotônicos durante o armazenamento

### 5.9.1. Caracterização química

#### 5.9.1.1. Betalainas totais

Os teores de betalainas totais dos isotônicos foram expressos em betanina (coloração vermelho-púrpura) e indicaxantina (coloração amarelo-alaranjado). Os resultados obtidos utilizando-se modelos estatísticos (Tabela 18), sendo testados quanto a sua significância ( $p < 0,05$ ), falta de ajuste não significativa ( $p > 0,05$ ), e coeficientes de determinação ( $R^2$ ).

A partir das equações estimadas e os respectivos coeficientes de determinação ( $R^2$ ), observou-se a influência do tempo de armazenamento (30 dias) no teor de betalaina nas cinco formulações de isotônicos, sobre as condições de armazenamento mantidas a temperaturas de 4 °C e 25 °C.

**Tabela 18.** Equações e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) estimados para as determinações de betalainas dos isotônicos em função do tempo de armazenamento durante 30 dias, sob refrigeração (4 °C) e a temperatura ambiente (25 °C).

Determinações (mg.100mL <sup>-1</sup> )	Equações estimadas		
	Tempo zero (25 °C)	Tempo 30 dias (25 °C)	Tempo 30 dias (4 °C)
Betanina	$\hat{Y}=Y=3,03\pm 0,11$ $R^2 = ***$	$\hat{Y}=0,061x^2-2,765x+33,33$ $R^2 = 0,87$	$\hat{Y}=Y=1,54\pm 0,27$ $R^2 = ***$
Indicaxantina	$\hat{Y}=Y=1,69\pm 0,39$ $R^2 = ***$	$\hat{Y}= Y=1,23\pm 0,31$ $R^2 = ***$	$\hat{Y}=-0,013x^2-0,567x-4,83$ $R^2 = 0,96$

FONTE: Dados autor (2020).

NOTA: \*\*\*não houve parâmetro significativo ( $p > 0,05$ ) para o modelo linear ou quadrático.  $R^2$  refere-se ao coeficiente de determinação calculado em relação a SQTRAT.

Os valores de betanina nos isotônicos, na temperatura ambiente (25 °C), apresentaram comportamento quadrático decrescente (Figura 11), demonstrando interação entre o aumento da concentração de “mel de cacau” e o tempo. A partir destes resultados, evidencia-se que a temperatura influenciou em conjunto com a presença de luz, resultando em efeito negativo sobre a coloração vermelha, característico da betanina.

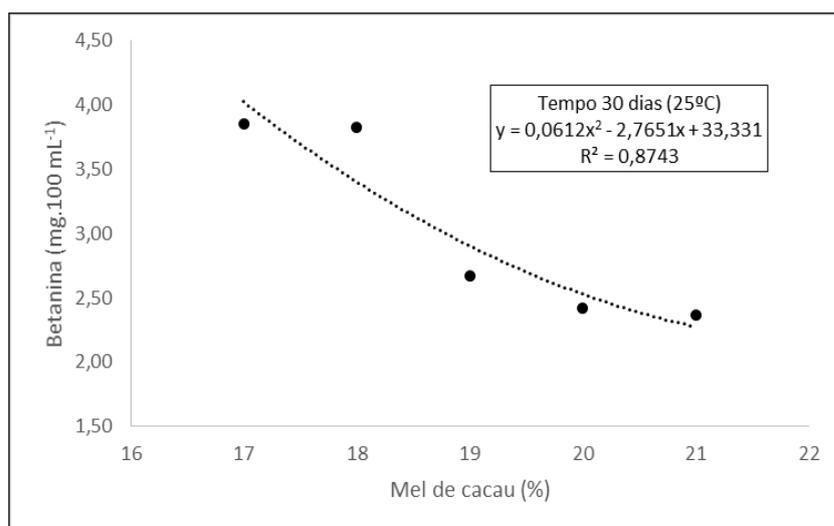
Entretanto, verificou-se que os teores de betanina nos isotônicos sob refrigeração não apresentou modelo de regressão linear ou quadrático significativo ( $p > 0,05$ ). Porém, verificou-

se uma redução do valor médio de betanina, em aproximadamente 50%, a partir do dia de fabricação até 30 dias de armazenamento.

Assim, pode-se inferir que a betanina não se apresentou estável durante o período de armazenamento, com maior degradação nos isotônicos armazenados a temperatura ambiente, demonstrando que os fatores tempo, temperatura e presença de luz podem interferir na degradação deste pigmento.

Choo et al. (2018) também observaram comportamento semelhante ao nosso estudo, quando avaliaram uma bebida fermentada de pitaya vermelha, sendo observado a degradação de betanina mais acelerada a temperatura ambiente (25 °C), em 8 semanas de armazenamento. Wong e Siow (2015) revelam que essa degradação também pode ser influenciada pela atividade da água, ao observarem melhor retenção da betacianina em suco concentrado da pitaya vermelha. A partir dessa informação, pode-se inferir que a maior proporção de água nas formulações dos isotônicos possivelmente influenciou na redução da betanina.

**Figura 11.** Representação gráfica da estabilidade das formulações de isotônicos para as determinações de betalainas, expresso em valores de betanina.



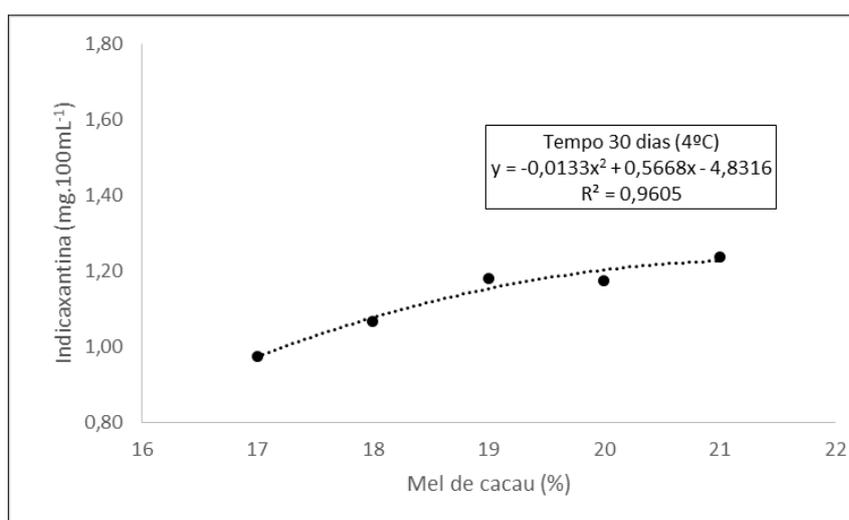
FONTE: Dados autor (2020).

Quanto aos teores de indicaxantina, observou-se que os resultados apresentaram modelo de regressão quadrático significativo ( $p < 0,05$ ) apenas para os isotônicos armazenados a 4 °C. Os valores de indicaxantina foram crescentes (Figura 12) demonstrando interação entre o aumento da concentração de “mel de cacau” e o tempo. Na temperatura ambiente, não houve diferença estatística entre os valores de indicaxantina. Embora, observa-se que os teores médios

foram inferiores ao tempo zero. Assim, pode-se inferir que a indicaxantina também foi influenciada pelo tempo durante o armazenamento dos isotônicos, porém em menor proporção.

Desta forma, os resultados podem ser explicados pelas diferentes estruturas químicas da betanina e indicaxantina, conforme relatado por Mahayothee et al. (2018), que ao avaliarem a influência da secagem sobre os teores de betacianina em pitaya vermelha, verificaram que a mudança lenta do pigmento de vermelho para amarelo estava relacionada à complexidade das estruturas químicas da betalaina, teor de açúcar e outros compostos fenólicos.

**Figura 12.** Representação gráfica da estabilidade dos isotônicos para determinação de betalainas, expresso em valores de indicaxantina.



FONTE: Dados autor (2020).

Os resultados apresentados nesse estudo corroboram ao encontrado por Wong e Siow (2015) e Choo et al. (2018) ao avaliarem suco concentrado da pitaya vermelha e bebida fermentada de pitaya vermelha, respectivamente, demonstrando que o armazenamento a 4 °C apresentou melhor retenção de betalaina em comparação com o armazenamento a 25 °C.

Além disso, é notório maior declínio nos valores da betanina do que a indicaxantina, isto pode ser verificado pelo comportamento dos gráficos (Figuras 7 e 8), podendo revelar uma possível tendência dos isotônicos a coloração amarelo-alaranjado.

### 5.9.1.2. Constituintes fenólicos totais (CFT)

O conteúdo de CFT das cinco formulações de isotônicos foi modelado estatisticamente após armazenamento por 30 dias, em condições de temperatura 4 °C e 25 °C (Tabela 19). Os

modelos foram testados quanto a sua significância ( $p < 0,05$ ), falta de ajuste não significativa ( $p > 0,05$ ), e coeficientes de determinação ( $R^2$ ).

**Tabela 19.** Equações e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) estimados para análise de CFT dos isotônicos em função do armazenamento durante 30 dias, sob refrigeração (4 °C) e a temperatura ambiente (25 °C).

Tempo/Temperatura	Equações estimadas	$R^2$
Zero (25 °C)	$\hat{Y}=Y=9,705\pm 0,518$	***
30 dias (25 °C)	$\hat{Y}=0,273x^2-9,772x+100,74$	0,99
30 dias (4 °C)	$\hat{Y}=-0,368x^2+14,46x-134,36$	0,95

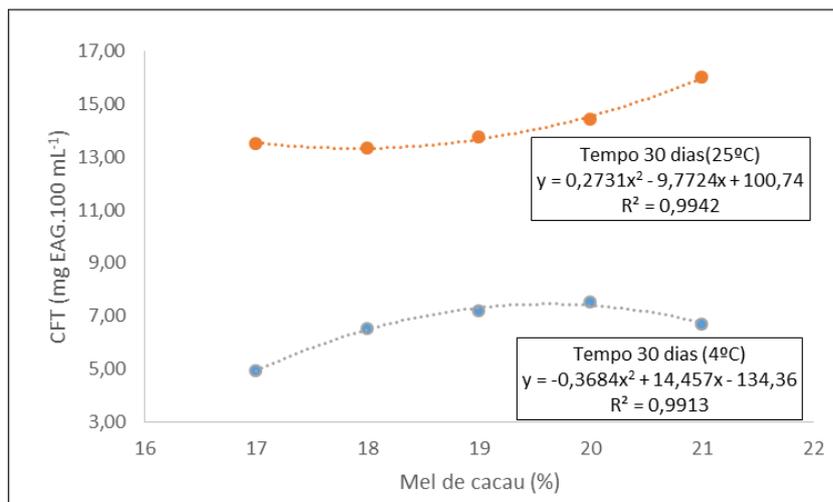
FONTE: Dados autor (2020).

NOTA: \*\*\*não houve parâmetro significativo ( $p > 0,05$ ) para o modelo linear ou quadrático.  $R^2$  refere-se ao coeficiente de determinação calculado em relação a SQTRAT.

O efeito da interação da concentração de “mel de cacau” nos isotônicos com o tempo foi significativo ( $p < 0,05$ ), favorecendo para o modelo apresentar comportamento quadrático crescente dos resultados na temperatura 25 °C (Figura 13). Assim, após 30 dias de armazenamento dos isotônicos, o conteúdo de CFT apresentou diferença estatística ( $p < 0,05$ ) entre as formulações, aumentando os seus valores a proporção que foi adicionando o “mel de cacau”.

Os resultados dos isotônicos armazenados por 30 dias sob refrigeração (4 °C) apresentaram comportamento quadrático crescente com redução aos teores de CFT no percentual 21% de “mel de cacau” (Figura 13), demonstrando que o tempo apresentou influência nessa condição de armazenamento.

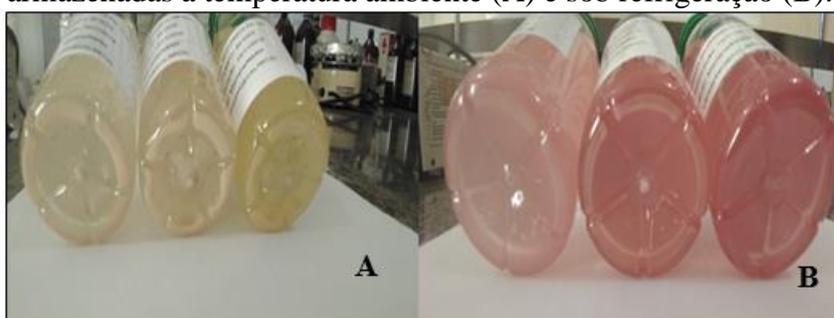
**Figura 13.** Representação gráfica da estabilidade das bebidas em relação aos teores de CFT.



FONTE: Dados autor (2020).

As diferenças de comportamento entre os isotônicos armazenados por 30 dias nas temperaturas 4 °C e 25 °C podem estar relacionadas aos processos químicos, que possivelmente alterou o pH dos isotônicos na temperatura ambiente. Observou-se que esses resultados corroboram ao encontrado por Das, Goud e Das (2019), ao destacarem que os ácidos fenólicos são instáveis em várias condições ambientais, como luz, pH, temperatura. Além disso, o surgimento de partículas sedimentadas (Figura 14), pode também ter influência nessa variação do conteúdo de CFT, apresentando maior proporção as formulações armazenadas em temperatura ambiente (25°C).

**Figura 14.** Ilustração das formulações de isotônicos, com a presença de partículas sedimentadas, armazenadas a temperatura ambiente (A) e sob refrigeração (B).



FONTE: Dados autor (2020).

Gironés-Vilaplana et al. (2012) relacionam a superestimação do conteúdo CFT, em bebidas isotônicas com o tempo, ao método utilizado para sua determinação. Destacam-se que o reagente Folin-Ciocalteu pode reagir não apenas com fenólicos, mas também com uma variedade de compostos redutores não fenólicos (agentes orgânicos e inorgânicos). Assim,

pode-se inferir a possível interferência desse reagente nos resultados deste estudo, por também ter sido utilizado na determinação dos CFT nos isotônicos.

### 5.9.1.3. Determinação objetiva de cor

Os resultados das coordenadas de cor dos isotônicos elaborados foram modelados estatisticamente (Tabela 20) em função da influência do tempo de armazenamento (30 dias) nas diferentes condições de estocagem (4° C e 25 °C). Os modelos foram analisados quanto a sua significância ( $p < 0,05$ ), falta de ajuste não significativa ( $p > 0,05$ ), e coeficientes de determinação ( $R^2$ ).

Para o tempo zero, não houve modelo de regressão linear ou quadrático significativo ( $p > 0,05$ ), como discutido anteriormente no item 5.5, entretanto, observou-se existir efeito de interação do tempo zero em relação a diferentes concentrações de “mel de cacau” nas formulações durante o período de armazenamento. Para as coordenadas  $a^*$  (25 °C),  $b^*$  (4 °C),  $c^*$  (25 °C),  $h^*$  (4 e 25 °C), os resultados apresentaram modelo com comportamento quadrático.

Para as coordenadas  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $c^*$  e  $h^*$ , no tempo de 30 dias, não houve modelo de regressão linear ou quadrático significativo ( $p > 0,05$ ), indicando não haver diferença estatística do efeito da temperatura nas diferentes formulações de isotônicos.

**Tabela 20.** Equações e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) estimados para análise de cor dos isotônicos estocados durante 30 dias de armazenamento sob refrigeração (4 °C) e a temperatura ambiente (25 °C).

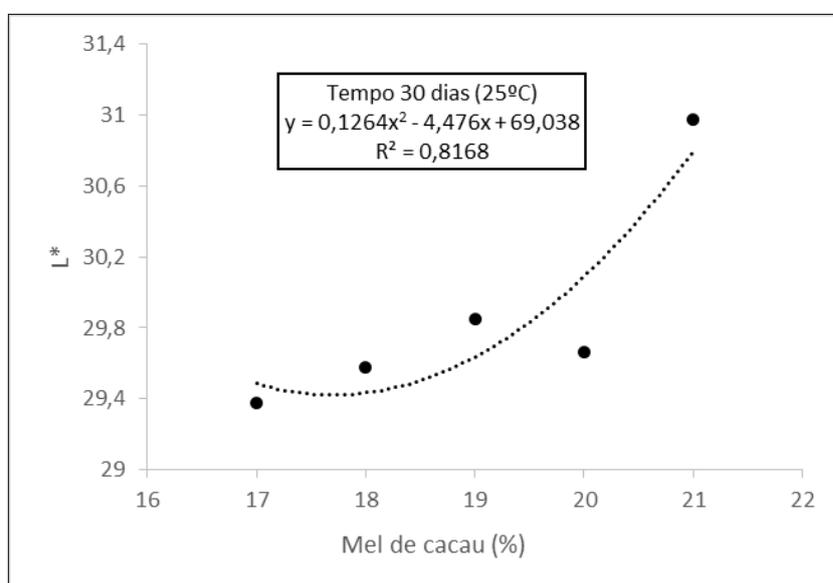
Coordenadas	Equações estimadas		
	Tempo zero (25 °C)	Tempo 30 dias (25 °C)	Tempo 30 dias (4 °C)
$L^*$	$\hat{Y}=Y=25,90 \pm 1,08$ $R^2 = ***$	$\hat{Y}=0,1264x^2-4,476x+69,04$ $R^2 = 0,82$	$\hat{Y}=Y=27,21 \pm 0,63$ $R^2 = ***$
$a^*$	$\hat{Y}=Y=5,87 \pm 1,08$ $R^2 = ***$	$\hat{Y}=-0,399x^2+15,158x-140,19$ $R^2 = 0,97$	$\hat{Y}=Y=5,04 \pm 1,17$ $R^2 = ***$
$b^*$	$\hat{Y}=Y=-0,51 \pm 0,26$ $R^2 = ***$	$\hat{Y}=Y=-0,72 \pm 0,48$ $R^2 = ***$	$\hat{Y}=0,1633x^2-6,275x+59,89$ $R^2 = 0,75$
$c^*$	$\hat{Y}=Y=5,96 \pm 0,74$ $R^2 = ***$	$\hat{Y}=-0,4245x^2+16,161-149,55$ $R^2 = 0,98$	$\hat{Y}=Y=5,10 \pm 1,11$ $R^2 = ***$
$h^*$	$\hat{Y}=Y=-0,09 \pm 0,03$ $R^2 = ***$	$\hat{Y}=Y=0,11 \pm 0,08$ $R^2 = ***$	$\hat{Y}=0,023x^2-0,865x+8,22$ $R^2 = 0,72$

FONTE: Dados autor (2020).

NOTA: \*\*\*não houve parâmetro significativo ( $p > 0,05$ ) para o modelo linear ou quadrático.  $R^2$  refere-se ao coeficiente de determinação calculado em relação a SQTRAT.

Para o parâmetro L\*, observou-se que as formulações de isotônicos acondicionados em temperatura ambiente (25 °C), apresentou modelo com efeito quadrático crescente (Figura 15). Quanto maior o período de estocagem dos isotônicos, mais próximos da tonalidade mais clara, uma vez que o parâmetro L\* foi crescente durante os 30 dias de armazenagem. Assim, pode-se inferir que o tempo de armazenamento apresentou influência sobre a cor instrumental das bebidas para apenas para a condições de acondicionamento em temperatura ambiente. Esse resultado confirma o efeito negativo sob as condições de armazenamento sobre as betalainas, onde o tempo associado com a temperatura aceleram o seu processo de degradação.

**Figura 15.** Representação gráfica da estabilidade das formulações de isotônicos quanto ao parâmetro de cor L\*.



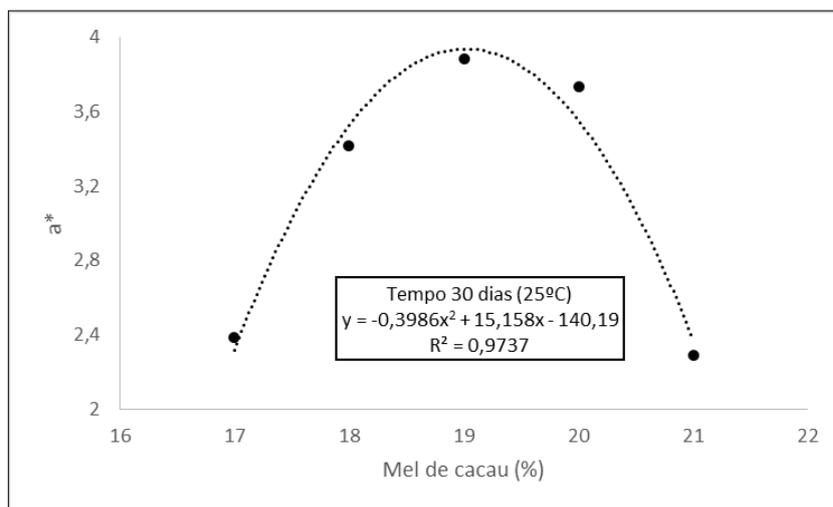
FONTE: Dados autor (2020).

Para a coordenada de cromaticidade a\*, os resultados apresentaram um comportamento quadrático na temperatura 25 °C. Ao analisar o gráfico (Figura 16), verificou-se crescimento dos valores de a\* nas formulações com 17% e 18%, apresentando ponto máximo em 19%, e em seguida houve um declínio do seu valor entre o dia de fabricação e os 30 primeiros dias de acondicionamento. Esses dados demonstram que o valor de a\* foi negativo, com redução de intensidade da cor vermelha tendendo para cor verde. Assim, pode-se confirmar que a degradação das betalainas está relacionado aos fatores maior temperatura e a presença de luz que aceleraram o seu processo de degradação.

Entretanto, a cor das formulações dos isotônicos sob as condições de armazenamento, a partir do dia de fabricação até 30 dias sob refrigeração, permaneceram próxima a região do

vermelho, uma vez que os valores de  $a^*$  apresentaram valores médios positivos para esta coordenada.

**Figura 16.** Representação gráfica da estabilidade das formulações de isotônicos quanto ao parâmetro de cor  $a^*$ .



FONTE: Dados autor (2020).

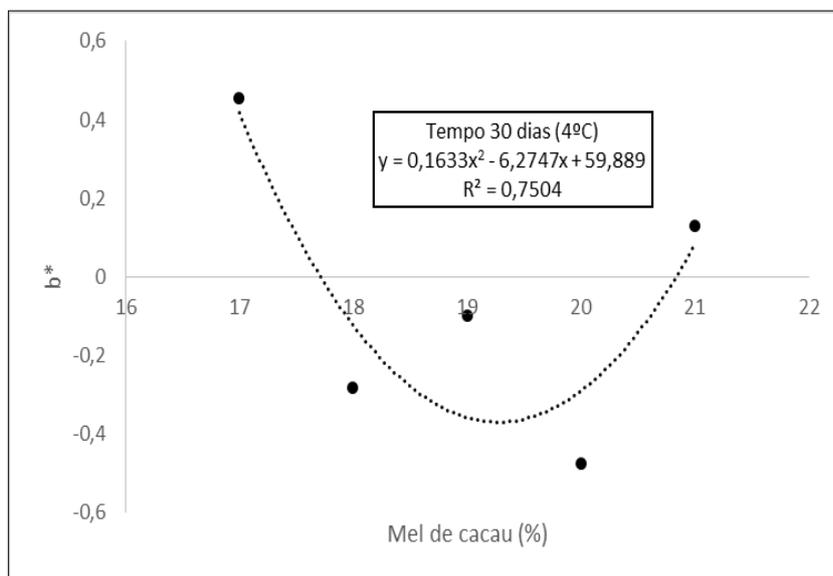
Quanto a coordenada  $b^*$ , os isotônicos formulados armazenados sob refrigeração (4 °C) apresentaram melhor ajuste para o modelo quadrático. A curva no formato de parábola (Figura 17) revelam que nas formulações contendo 17 e 18% de “mel de cacau” os valores de  $b^*$  diminuíram, pois se apresentaram negativos. No entanto, observou-se um aumento do valor de  $b^*$  após 30 dias de armazenamento na formulação com 21% de “mel de cacau”. Assim, pode-se inferir a redução da coloração azul das formulações de isotônicos com tendência para o amarelo. Para as formulações de isotônicos armazenados a temperatura ambiente (25 °C) até os 30 dias de estocagem, os valores se apresentaram negativos, indicando coloração azul.

A coordenada  $c^*$  que se refere a saturação da cor das formulações de isotônicos foi influenciada principalmente pelo efeito da interação da concentração de “mel de cacau” e tempo na temperatura 25 °C. Os resultados para esta variável apresentaram comportamento quadrático, com redução dos valores de saturação ao aumentar a concentração de “mel de cacau” de 19 a 21%, após 30 dias de armazenamento (Figura 18).

Assim, os isotônicos elaborados com maior proporção de “mel de cacau” tendem a apresentar uma diminuição na intensidade da coloração vermelha, em razão não apenas pelo efeito deletério das condições de armazenamento (25 °C) nas betalainas, mas também pelo

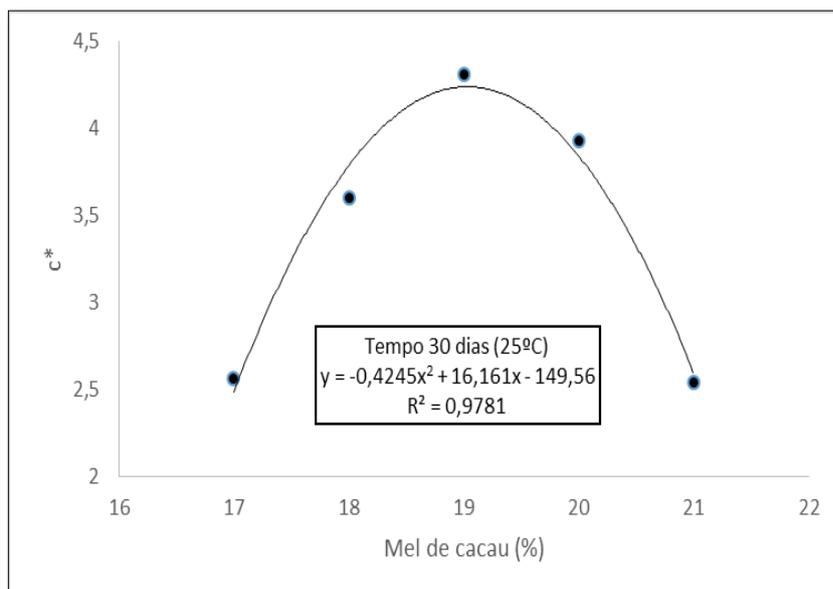
início do processo de fermentação da bebida, confirmado pelos resultados dos padrões microbiológicos, com maior somatório de bolores e leveduras, após 30 dias de armazenamento.

**Figura 17.** Representação gráfica da estabilidade das formulações de isotônicos para o parâmetro de cor  $b^*$ .



FONTE: Dados autor (2020).

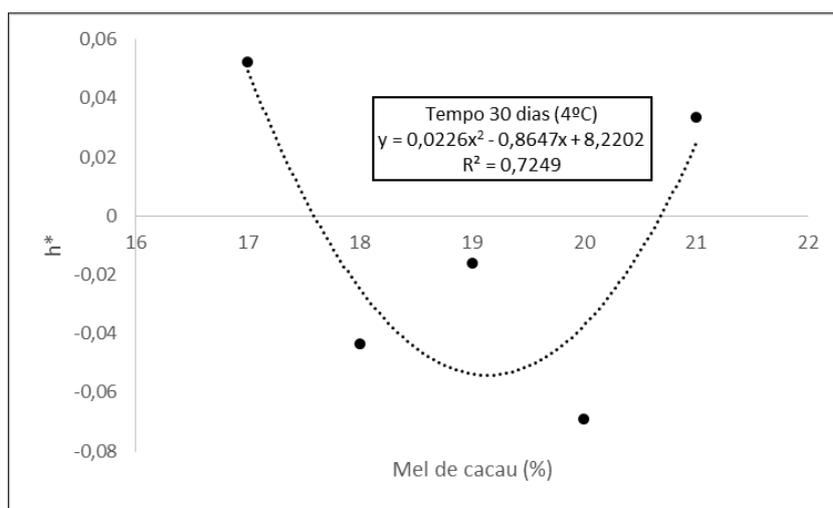
**Figura 18.** Representação gráfica da estabilidade das formulações de isotônicos para o parâmetro de cor  $c^*$ .



FONTE: Dados autor (2020).

A tonalidade, representada pelo valor de  $h^*$ , traduz a cor propriamente dita. Para os isotônicos armazenados sob refrigeração (4 °C), o modelo de melhor ajuste foi o quadrático (Figura 19), indicando que houve influência das condições de armazenamento nos valores de  $h^*$ . No entanto, observou-se que tanto na temperatura de 4 °C quanto na de 25 °C, os valores de  $h^*$  após 30 dias se apresentaram positivos, podendo inferir que a tonalidade dos isotônicos apresentou cor menos intensa para o vermelho.

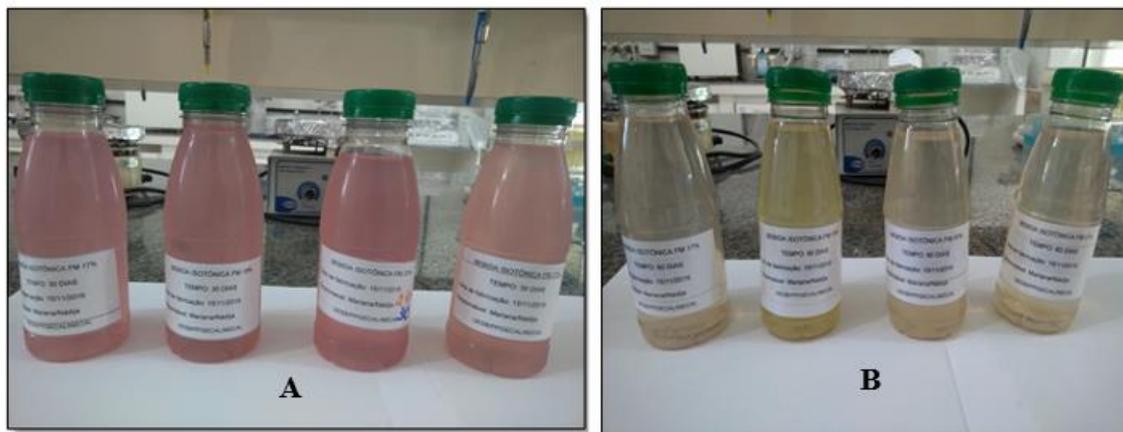
**Figura 19.** Representação gráfica da estabilidade das formulações de isotônicos para o parâmetro de cor  $h^*$ .



FONTE: Dados autor (2020).

Diante dos resultados apresentados para a estabilidade dos isotônicos, constata-se que houve mudança na tonalidade da cor vermelho para amarelo (Figura 20) das formulações após 30 dias de armazenamento, principalmente na temperatura ambiente, justificado pelo processo de degradação das betalainas.

**Figura 20.** Ilustração das formulações de isotônicos armazenadas sob refrigeração (4 °C), coloração rosa claro (A), e em temperatura ambiente (25 °C), coloração transparente (B), após 30 dias.



FONTE: Dados autor (2020).

### 5.10. Análise microbiológica

As etapas do processamento das formulações de isotônicos são fundamentais para qualidade microbiológica. As formulações foram submetidas à adição de conservantes e acidulantes que contribuíram para o seu baixo valor de pH, ao processo físico da centrifugação, e por fim, ao tratamento térmico (pasteurização lenta). A soma desses fatores pode ter contribuído para baixa contaminação, mesmo utilizando como base dos isotônicos o coproduto do cacau que poderia favorecer ao processo de fermentação.

Na Tabela 21, estão apresentados os valores obtidos para as contagens microbiológicas de coliformes totais, *Escherichia coli*, bolores e leveduras e pesquisa de *Salmonella* spp. em formulações de isotônicos. No tempo zero, escolheu-se a formulação de isotônico com maior proporção de “mel de cacau” para realizar as análises, já que todas foram submetidas ao mesmo padrão de processamento. Após 30 dias de fabricação, realizou-se a contagem desses microrganismos em apenas um isotônico com a mesma formulação, porém armazenados nas temperaturas de 4 °C e 25 °C.

Os resultados da contagem microbiológica dos isotônicos elaborados atenderam aos padrões estabelecidos pela resolução RDC nº 331, de 23 de dezembro de 2019 (BRASIL, 2019).

**Tabela 21.** Contagens microbiológicas de coliformes totais, *Escherichia coli*, bolores e leveduras e pesquisa de *Salmonella* spp. em formulações de isotônicos.

Microorganismos	Tempo (dias)	Temperatura	
		4 °C	25 °C
Coliformes totais (UFC.mL <sup>-1</sup> )	0	-	< 1,0 x 10 <sup>1</sup>
	30	< 1,0 x 10 <sup>1</sup>	< 1,0 x 10 <sup>1</sup>
<i>Escherichia coli</i> (UFC.mL <sup>-1</sup> )	0	-	< 1,0 x 10 <sup>1</sup>
	30	< 1,0 x 10 <sup>1</sup>	< 1,0 x 10 <sup>1</sup>
<i>Salmonella</i> spp. em 25 mL	0	-	Ausência
	30	Ausência	Ausência
Bolores e leveduras (UFC.mL <sup>-1</sup> )	0	-	8,0 x 10 <sup>0</sup>
	30	< 1,0 x 10 <sup>1</sup>	1,9 x 10 <sup>2</sup>

FONTE: Dados autor (2020).

Conforme a categoria específica para alimentos prontos para consumo dessa resolução, a *Salmonella* spp. deve estar ausente e o somatório de bolores e leveduras ser inferior a  $2 \times 10^2$  (UFC.mL<sup>-1</sup>), indicando que os resultados obtidos neste estudo estão condizentes com o que preconiza a legislação, embora a contagem de bolores e leveduras esteja próximo ao valor limite. Entretanto, ao considerar a temperatura e o tempo, observou-se diferenças de valores para bolores e leveduras nas formulações, demonstrando que esses fatores foram limitantes para a vida de prateleira do produto.

De acordo a legislação vigente, ao identificar a presença de coliformes totais num produto torna-se necessária a contagem de *Escherichia coli*, sendo que esta deve ser inferior a  $2 \times 10^1$  (UFC.mL<sup>-1</sup>). Assim, os resultados das formulações de isotônicos apresentaram valores inferiores a  $1 \times 10^1$  (UFC.mL<sup>-1</sup>) para contagem de *Escherichia coli*, atendendo aos padrões microbiológicos (BRASIL, 2019).

Portanto, pode-se inferir que as formulações de isotônicos analisadas a base de “mel de cacau” e extratos hidroetanólicos concentrados da pitaya vermelha apresentaram boa qualidade microbiológica e estão apropriadas para consumo pelos praticantes de atividade física. No entanto, os isotônicos armazenados à temperatura 4 °C apresentaram-se mais eficazes para estabilidade.

## 5.11. Análise sensorial

Aplicou-se as fichas de análise sensorial juntamente com a intenção de compra (Apêndice III) para praticantes de atividade física após uma trilha de ciclismo, com duração mínima de 1 hora. Escolheu-se esse público por serem possíveis consumidores dos isotônicos, totalizando 103 provadores. Desse total de entrevistados, 89% eram do sexo masculino e 12% do sexo feminino, com faixa etária de 29 a 39 anos e praticam atividade física com frequência de 2 a 3 vezes por semana.

### 5.11.1. Teste de aceitação dos isotônicos

A avaliação da aceitação de um produto pelo consumidor é um ponto primordial em seu desenvolvimento, pois para ser lançado no mercado é necessário ter uma boa aceitação.

Para avaliar aceitabilidade dos isotônicos, aplicou-se o teste de aceitação com escala hedônica verbal de 9 pontos, variando de “gostei extremamente” a “desgostei extremamente”. Considerou-se os atributos, cor e sabor, por ter maior influência na avaliação das referidas bebidas.

Os resultados do teste de aceitação das cinco formulações de isotônicos (Tabela 22) foram modelados estatisticamente quanto a sua significância ( $p < 0,05$ ), falta de ajuste não significativa ( $p > 0,05$ ), e coeficientes de determinação ( $R^2$ ).

**Tabela 22.** Equações estimadas e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) para os atributos sensoriais do teste de aceitação das formulações de isotônicos.

Atributos	Equações estimadas	$R^2$
Cor	$\hat{Y} = -0,079x^2 + 3,01x - 22,16$	0,91
Sabor	$\hat{Y} = Y = 6,27 \pm 0,13$	***

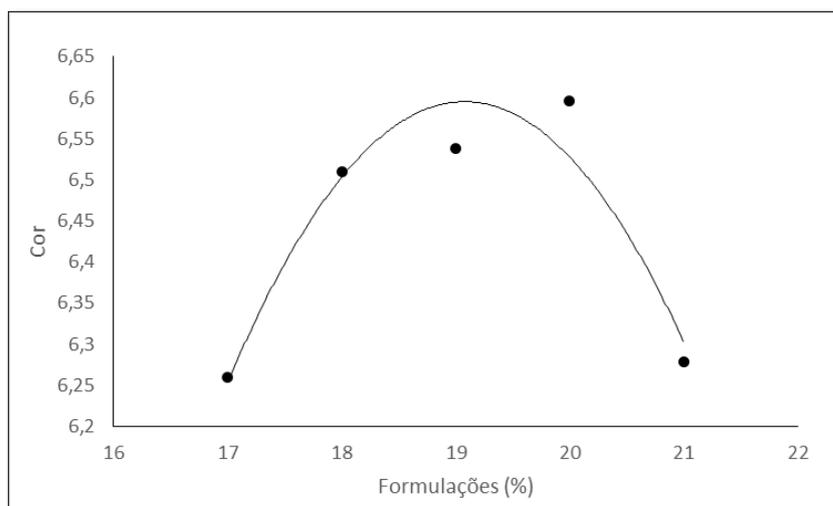
FONTE: Dados autor (2020).

NOTA: \*\*\* não houve parâmetro significativo ( $p > 0,05$ ) para o modelo linear ou quadrático.

Para o atributo cor, os resultados apresentaram comportamento quadrático (Figura 21) e as notas situaram-se entre a escala 6 (“gostei ligeiramente”) e 7 (“gostei moderadamente”). A formulação com concentração de 20% de “mel de cacau” apresentou maior nota para o atributo cor, embora não existir variação da quantidade dos extratos hidroetanólicos concentrados da casca e polpa de pitaya vermelha entre as formulações.

Assim, foi fundamental avaliar este atributo para demonstrar a viabilidade dos extratos hidroetanólicos concentrados em substituir os corantes sintéticos, geralmente utilizados nos isotônicos comerciais. Além disso, a análise sensorial demonstrou que a cor das formulações foi um fator favorável para atrair os entrevistados por apresentar uma tonalidade diferente dos isotônicos convencionais.

**Figura 21.** Representação gráfica do teste de aceitação das formulações de isotônicos, referente ao atributo cor.



FONTE: Dados autor (2020).

Entretanto, para o atributo sabor não houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre as notas atribuídas às formulações dos isotônicos. O valor médio apresentou-se próximo a escala de 6 pontos, demonstrando que os participantes gostaram ligeiramente de todas as formulações apresentadas.

Esse resultado pode ser considerado satisfatório, considerando que 52% dos participantes informarem já ter experimentado o “mel de cacau”, destes apenas 19% têm hábito de consumir isotônico pelo menos 1 vez na semana, sugerindo que os participantes não têm o hábito de consumir isotônico durante a prática esportiva.

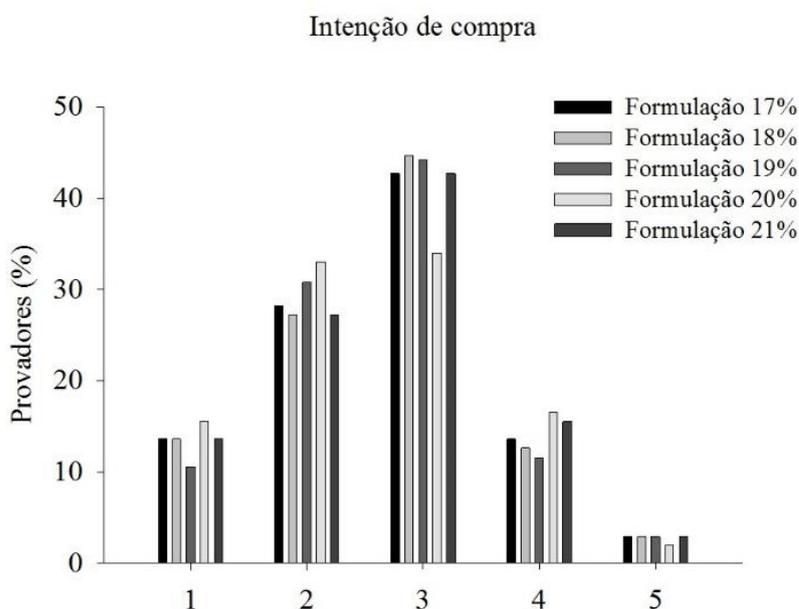
Associado ao teste de aceitabilidade das formulações de isotônicos, foram aplicadas fichas para avaliar a escala do ideal quanto à doçura e intensidade do sabor do “mel de cacau” (Apêndice III). Em ambos, não houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os resultados e observou-se valor médio de 3, demonstrando que a doçura e o intensidade do sabor do “mel de cacau” foram considerados ideais.

Diante dos resultados, observou-se que foi possível a substituição do açúcar refinado pelo “mel de cacau”, e a combinação do pigmento dos extratos hidroetanólicos concentrados da casca e polpa de pitaya vermelha com o “mel de cacau” foi positiva para a aceitabilidade sensorial dos isotônicos, pois promoveu uma cor atrativa ao consumidor sem interferir no sabor do coproduto do cacau.

### 5.11.2. Intenção de Compra

Os resultados de intenção de compra das formulações de isotônicos não diferiram estatisticamente entre si ( $p < 0,05$ ). A intenção de compra revelou que 14% dos entrevistados “certamente compraria”, 30% “compraria” e 42% “talvez” comprariam os isotônicos (Figura 22). Assim, pode-se considerar este resultado positivo, pois 44% dos entrevistados relataram que compraria as formulações de isotônicos, além disso observou-se através do questionário aplicado (Apêndice II) que os provadores não têm hábito de consumir isotônicos durante ou após a prática de atividade física. Do total de 103 entrevistados, 21% relataram consumir isotônico pelo menos uma vez por semana, no entanto, destes apenas 33% relataram que compraria os isotônicos elaborados.

**Figura 22.** Representação gráfica da intenção de compra das formulações de isotônicos.



FONTE: Dados autor (2020).

NOTA: 1: “certamente compraria”; 2: “compraria”; 3: “talvez”; 4: “não compraria”; 5: “certamente não compraria”.

Ao verificar os comentários presentes nas fichas de avaliação, observou-se relatos dos provadores que compraria os isotônicos por curiosidade e por achar o sabor semelhante aos isotônicos comerciais, outros mencionaram que precisariam saber as informações nutricionais para decidir se compraria ou não os isotônicos. Assim, os entrevistados estão dispostos a aceitar novas tendências por estarem cada vez mais preocupados com a questão da saúde.

Desta forma, pode-se inferir que os isotônicos elaborados têm potencial para ser lançado no mercado, por ser ter uma boa aceitação pelo teste de aceitabilidade e pela intenção de compra, além disso é uma proposta inovadora e promissora ainda não explorada na indústria de bebidas.

## 6. CONCLUSÃO

O conhecimento das características físicas e químicas das matérias-primas e dos isotônicos é fundamental para confirmar que o “mel de cacau” pode ser utilizado como base para elaboração das formulações das bebidas e demonstrar o seu potencial em substituir parcialmente o açúcar refinado.

A casca e a polpa de pitaya vermelha são boas fontes de betalainas e constituintes fenólicos, e apresentam considerável capacidade antioxidante, o que justifica a sua utilização em isotônicos como corantes naturais em substituição aos corantes sintéticos. Além disso, a ausência de antinutrientes na casca da fruta demonstra que pode ser utilizada no desenvolvimento de novos produtos, contribuindo com o potencial funcional.

Constata-se que é possível elaborar formulações de isotônicos em conformidade à legislação brasileira e ao *Codex Alimentarius*.

O estudo da estabilidade, cor, caracterização química e microbiológica é de extrema relevância, a partir deste é possível verificar que a condição de armazenamento das formulações por 30 dias a 4 °C apresentaram-se mais estáveis.

Os resultados oriundos da avaliação sensorial revelaram que as formulações de isotônicos elaboradas atingiram boa aceitação pelos provadores. Ademais, estes demonstraram que estão dispostos a consumir bebidas isotônicas com valor nutricional e características funcionais agregados.

Portanto, a combinação tecnológica, da substituição parcial do açúcar refinado por “mel de cacau” e total substituição de corante sintético por extratos hidroetanólicos concentrados de pitaya vermelha, surge como um produto pioneiro e inovador, ainda não explorado pela indústria de bebidas, e certamente servirá de aporte científico para futuros estudos.

## REFERÊNCIAS

AADIL, R.M.; ROOBAB, U.; SAHAR, A.; UR RAHMAN, U.; KHALIL, A.A. Functionality of Bioactive Nutrients in Beverages. **Nutrients in Beverages**, v. 12, p. 237-276, 2019.

ABIR. Associação Brasileira das Indústrias de Refrigerantes e Bebidas não Alcolólicas. **Isotônicos**, Brasília – DF. Disponível em <<https://abir.org.br/o-setor/dados/isotonicos/>>. Acesso 15 de jan. de 2020.

ABREU, W.C.; LOPES, C.O.; PINTO, K.M.; OLIVEIRA, L.A.; CARVALHO, G.B.M.; BARCELOS, M. F. P. Características físico-químicas e atividade antioxidante total de pitaias vermelha e branca. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 71, p. 656-61, 2012.

ACSM. American College of Sports Medicine. Exercise and fluid replacement. **Medicine & Science in Sports Exercise**, v. 39, p. 377-90, 2007.

ADA. American Diabetes Association Standards of Medical Care in Diabetes. **Diabetes Care**, v. 40 (suppl 1), p. 33 - 43, 2017.

AGUIAR, T.M.; SABAA-SRUR, A.U.O.; SAMICO, G.F. Potencial nutritivo e características físicas e químicas do abajeru. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 41, p. 10-52, 2011.

ALVES, A.C.B.; MONTEIRO, L.B.; POMPEU, D.R. Otimização da extração sólido-líquido de compostos fenólicos totais e betalinas da casca de frutos de pitaya (*Hylocereus polyrhizus*). **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 12, p. 2556-2577, 2018.

ANVOH, K.Y.B.; BI, A.Z.; GNAKRI, D. Production and Characterization of Juice from Mucilage of Cocoa Beans and its Transformation into Marmalade. **Pakistan Journal of Nutrition**, v. 8, p. 129-133, 2009.

AOAC. **Official Methods of Analysis**. International Fruits and Fruit Products. Gaithersburg: Published by AOAC International. Chapter 37, 2010.

APHA. American Public Health Association. **Compendium of Methods for Microbiological Examination of Foods**. Chapter 21. 5<sup>a</sup> ed., 2015.

ASHURST, P. The Stability and Shelf Life of Fruit Juices and Soft Drinks. **The Stability and Shelf Life of Food**, 2<sup>a</sup> ed., p. 347-374, 2016.

AZEREDO, H.M.C. Betalains: Properties, sources, applications, and stability - A review. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 44, p. 2365–2376, 2009.

BADER-UL-AIN, H.; ABBAS, M.; SAEED, F.; KHALID, S.; SULERIA, H.A.R. Functional Nonalcoholic Beverages: A Global Trend Toward a Healthy Life. **Non-Alcoholic Beverages**, p. 73–105, 2019.

BALLADARES, C.; CHÓEZ-GUARANDA, I.; GARCÍA, J.; SOSA, D.; PÉREZ, S.; GONZÁLES, J.E.; VITERI, R.; BARRAGÁN, A. QUIJANO-AVILÉS, M. MANZANO, P. Physicochemical characterization of *Theobroma cacao* L. sweatings in Ecuadorian coast. **Emirates Journal of Food and Agriculture**, v. 28, p. 741-745, 2016.

- BELHADJ SLIMEN, I.; NAJAR, T.; ABDERRABBA, M. Chemical and Antioxidant Properties of Betalains. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 65, p. 675–689, 2017.
- BOVI, G.G; PETRUS, R.R.; PINHO, S.C. Feasibility of incorporating buriti (*Mauritia flexuosa L.*) oil nanoemulsions in isotonic sports drink. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 52, p. 2201–2209, 2017.
- BRADFORD, M.M. A rapid and sensitivienethod for the quantitation of microgram quantites of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 27, p. 248-254, 1976.
- 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, p. 25-30, 1995.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Instrução Normativa – IN nº 28, de 26 de julho de 2018**. Estabelece as listas de constituintes, de limites de uso, de alegações e de rotulagem complementar dos suplementos alimentares. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, 27 de julho de 2018.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Resolução RDC nº 360, de 23 de dezembro de 2003**. Regulamento Técnico sobre Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalado. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, 23 de dezembro de 2003.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Resolução RDC nº 263, de 22 de setembro de 2005**. Regulamento técnico para produtos de cereais, amidos, farinhas e farelos. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, 23 de setembro de 2005.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **RDC nº 331, de 23 de dezembro de 2019**. Dispõe sobre os padrões microbiológicos de alimentos e sua aplicação. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, 26 de dezembro de 2019.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Guia alimentar para a população brasileira**, 2ª ed., Brasília: Ministério da Saúde, 2014.
- CAROCHO, M.; BARREIRO, M.F.; MORALES, P.; FERREIRA, I.C.F.R. Adding Molecules to Food, Pros and Cons: A Review on Synthetic and Natural Food Additives. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v.13, p. 377-399, 2014.
- CAROCHO, M.; MORALES, P.; FERREIRA, I.C.F.R. Antioxidants: Reviewing the chemistry, food applications, legislation and role as preservatives. **Trends in Food Science & Technology**, v. 71, p. 107–120, 2018.
- CATALDO, D. A.; MAROON, M.; SCHARADER, L. E.; YOUNGS, V. L. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissues by nitration of salicylic acid. **Commun. Soil Science and Plant Analysis**, v. 6, p. 71-80, 1975.
- CELLI, G.B.; BROOKS, M.S.L. Impact of extraction and processing conditions on betalains

and comparison of properties with anthocyanins - A current review. **Food Research International**, v. 100, p. 501–509, 2017.

CHANDRASEKARA, A.; SHAHIDIB, F. Herbal beverages: Bioactive compounds and their role in disease risk reduction - A review. **Journal of Traditional and Complementary Medicine**, v. 8, p. 451-458, 2018.

CHITARRA, M.I.F.; CHITARRA, A.B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2ª ed. Lavras: UFLA, 2005.

CHOO, K.Y.; KHO, C.; ONG, Y.Y.; Thoo, Y.Y.; Lim, R.L.H.; Tan, C.P.; Ho, C.W. Studies on the storage stability of fermented red dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) drink. **Food Science and Biotechnology**, v. 27, p. 1411–1417, 2018.

CHOO, W.S.; YONG, W.K. Antioxidant properties of two species of *Hylocereus* fruits. **Advances in Applied Science Research**, v.2, p.418-425, 2011.

CORDEIRO, M.H.M.; SILVA, J.M.; MIZOBUTSI, G.P.; MIZOBUTSI, E.H.; MOTA, W.F. Caracterização física, química e nutricional da pitaiia-rosa de polpa vermelha. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 37, p. 20-26, 2015.

DAHDOUH, S.; GRANDE, F.; ESPINOSA, S.N.; VINCENT, A.; GIBSON, R.; BAILEY, K.; KING, J.; RITTENSCHOBBER, D.; CHARRONDIÈRE, U.R. Development of the FAO/INFOODS/IZINCG global food composition database for phytate. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 78, p. 42–48, 2019.

DAMIRCHI, A.; ZAREEI, A.S.; SARIRI, R. Salivary antioxidants of male athletes after aerobic exercise and garlic supplementattion on: A randomized, double blind, placebo-controlled study. **Journal of Oral Biology and Craniofacial Research**, v. 5, p. 146-153, 2015.

DAS, A.B.; GOUD, V.V.; DAS, C. Phenolic Compounds as Functional Ingredients in Beverages. **Value-Added Ingredients and Enrichments of Beverages**, v. 14, p. 285-323, 2019.

DE LA ROSA, L.A.; MORENO-ESCAMILLA, J.O.; RODRIGO-GARCÍA, J.; ALVAREZ-PARRILLA, E. Phenolic Compounds. Chapter 12. **Postharvest Physiology and Biochemistry of Fruits and Vegetables**, 1ª ed., p. 253-271, 2019.

DELGADO-VARGAS, F.; JIMÉNEZ, A.R.; PAREDES-LOPEZ, S. Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, and betalains — characteristics, biosynthesis, processing, and stability. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 40, p. 173-289, 2000.

DIKSHIT, R.; TALLAPRAGADA, P. Comparative Study of Natural and Artificial Flavoring Agents and Dyes. **Natural and Artificial Flavoring Agents and Food Dyes**, p. 83–111, 2018.

DOWNHAM, A.; COLLINS, P. Colouring our foods in the last and next millennium. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 35, p. 5–22, 2000.

DUARTE, M.H.; QUEIROZ, E.R.; ROCHA, D.A.; COSTA, A.C.; ABREU, C.M.P.

Qualidade de pitáia (*Hylocereus undatus*) submetida à adubação orgânica e armazenada sob refrigeração. **Brazilian Journal Food Technology**, v. 20, e2015115, 2017.

FAO/WHO. *Codex Alimentarius*. National Legislation. Peraturan-Peraturan Makanan (Pindaan). Food ACT 1983. **Food (Amendment) (no. 2) Regulations**, 2019 Disponível em: < <http://extwprlegs1.fao.org/docs/pdf/mal186132.pdf>>. Acesso em: 05 de jan. de 2020.

FAO/WHO. *Codex Alimentarius*. General standard for Food Additives. **CODEX STAN 192-1995**, 2019. Disponível em < [http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/shproxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FStandards%252FCXS%2B192-1995%252FCXS\\_192e.pdf](http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/shproxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FStandards%252FCXS%2B192-1995%252FCXS_192e.pdf)>. Acesso 20 de jan. de 2020.

FATHORDOOBADY, F.; MIRHOSSEINI, H.; SELAMAT, J.; MANAP, M. Y. A. Effect of solvent type and ratio on betacyanins and antioxidant activity of extracts from *Hylocereus polyrhizus* flesh and peel by supercritical fluid extraction and solvent extraction. **Food Chemistry**, v. 202, p. 70–80, 2016.

FERREIRA, P.R.; MARINS, J.C.B.; DE OLIVEIRA, L.L.; BASTOS, D.S.S.; SOARES JÚNIOR, D.T.; DA SILVA, C.D.; FONTES, E.A.F. Beverage based on whey permeate with phenolic extract of jaboticaba peel: A pilot study on effects on muscle and oxidative stress in trained individuals. **Journal of Functional Foods**, v. 65, 103749, 2019.

FERREIRA, L.R.; VALENTE, J.A.S.; FONTES, E.A.F.; LOPES, I.P.; STRINGHETA, P.C.; FERREIRA, P.R. Bebida hidroeletrólítica elaborada à base de permeado de leite adicionado de extrato de antocianinas da casca da jaboticaba. **Arquivos Brasileiros de Alimentos**, v. 3, p. 75-81, 2018.

FIGUEROA, K.H.N.; GARCÍA, N.V.M.; VEGA, R.C. Food Wastes and By-products: Nutraceutical and Health Potential. **Cocoa By-products**. 1ª ed. Editora Wiley-Blackwell, 2019.

FOONG, J.H.; HON, W.M.; HO, C.W. Bioactive compounds determination in fermented liquid dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*). **Borneo Science**, v. 31, p. 37-56, 2012.

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

GARCÍA-CRUZ, L.; VALLE-GUADARRAMA, S.; SALINAS-MORENO, Y.; LUNA-MORALES, C. DEL C. Postharvest quality, soluble phenols, betalains content, and antioxidant activity of *Stenocereus pruinosus* and *Stenocereus stellatus* fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 111, p. 69-76, 2016.

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

GERALDINI, S.; CRUZ, I. DE F.; ROMERO, A.; FONSECA, F.L.A.; CAMPOS, M.P. de. Isotonic sports drink promotes rehydration and decreases proteinuria following karate training. **Brazilian Journal of Nephrology**, v. 39, p. 362-369, 2017.

GIMÉNEZ, A.; ARES, G. Sensory shelf life estimation. **Food Quality and Shelf Life**, p. 333-357, 2019.

GIRONÉS-VILAPLANA, A.; HUERTAS, J.P.; MORENO, D.A.; PERIAGO, P.M.; GARCIA-VIGUERA, C. Quality and microbial safety evaluation of new isotonic beverage suprathermal treatments. **Food Chemistry**, v. 194, p. 455-462, 2016.

GIRONÉS-VILAPLANA, A., MENA, P., MORENO, D. A., GARCÍA-VIGUERA, C. 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, p. 1090-1100, 2012.

GIRONÉS-VILAPLANA, A., VILLAÑO, D., MORENO, D.A., GARCÍA-VIGUERA, C. New isotonic drinks with antioxidant and biological capacities from berries (maqui, açai and blackthorn) and lemon juice. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 64, p. 897-906, 2013.

GOMES, J.C.; OLIVEIRA, G.F. **Análises físico-químicas de alimentos**. Viçosa: UFV, p. 303, 2011.

GONÇALVES, L.C.P.; MARCATO, A.C.; RODRIGUES, A.C.B.; PAGANO, A.P.E.; FREITAS, B.C.; MACHADO, C.D.O.; BASTOS, E.L. Betalaínas: das cores das beterrabas à fluorescência das flores. **Revista Virtual de Química**, v. 7, p. 292, 2015.

GONZALES, A.D.F; LIMA, J.M; VITAL, A.V.D.; RODRIGUES, M.B.S. Desenvolvimento sustentável para o resgate da cultura do cacau baseado no aproveitamento de resíduos. **Interfaces Científicas, Saúde e Ambiente**, v.1, p. 41-52, 2012.

GÜNEŞER, O. Pigment and Colour Stability of Beetroot Betalains in Cow Milk During Thermal Running Head: Thermal Stability of Beetroot Betalains in Milk. **Food Chemistry**, v. 196, p. 220-227, 2015.

GRANATO, D.; NUNES, D.S. **Análises químicas, propriedades funcionais e controle da qualidade de alimentos e bebidas**. Editora: Elsevier Ltda, p. 576, 2016.

HALLIWELL, B. Oxidants and Disease Human: Some New Concepts. **The FASEB Journal**, v. 1, p. 358-364, 1987.

HIGASHIJIMA, N.S.; LUCCA, A.; REBIZZI, L.R.H.; REBIZZI, L.M.H. Fatores antinutricionais na alimentação humana. **Segurança Alimentar e Nutricional**, v. 27, p. 1-16, 2019.

HUA, Q.; CHEN, C; TEL ZUR, N.; WANG, H.; WU, J.; CHEN, J.; ZHANG, Z.; ZHAO, J.; HU, G.; QIN, Y. Metabolomic characterization of pitaya fruit from three red-skinned cultivars with different pulp colors, **Plant Physiology et Biochemistry**, v. 126, p. 117-125, 2018.

ISO. International Standard. **Determination of substances characteristic of green and black tea**. ISO 14502-1: 2005 (E). Geneva: ISO Copyright, 2005.

ISO. International Standard. **Microbiology of the food chain — Horizontal method for the**

**detection, enumeration and serotyping of *Salmonella* spp.** ISO 6579-1:2017. Geneva: ISO Copyright, 2017.

IAL. Instituto Adolfo Lutz. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análise de alimentos.** 3. ed. São Paulo: iMeSP, v.1, p. 98-99, 2008.

JANISZEWSKA-TURAK, E.; PISARSKA, A.; KRÓLCZYK, J.B. Natural food pigments application in food products. **Nauka Przyroda Technologie**, v.10, p. 1-13, 2016.

JERONIMO, M.C.; ORSINE, J.V.C.; NOVAES, M.R.C.G. Nutritional pharmacological and toxicological characteristics of pitaya (*Hylocereus undatus*): A review of the literature. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 11, p. 300-304, 2017.

KIM, H.; CHOI, H.K.; MOON, J.Y.; KIM, Y.S.; MOSADDIK, A.; CHO, S.K. Comparative Antioxidant and Antiproliferative Activities of Red and White Pitayas and Their Correlation with Flavonoid and Polyphenol Content. **Journal of Food Science**, v. 76, p. C38–C45, 2011.

LANNES, S.C.S., SILVA, M.V., SILVA, E.N., RAMOS, D.C., SU, F. **Composições alimentícias de chocolate e de gelado comestível contendo “mel de cacau”.** BR n. PI 102013 005053-9. São Paulo: Departamento de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica, Universidade de São Paulo; Itapetinga: Departamento de Ciências Exatas e Naturais, UESB, 2013.

LE BELLEC, F.; VAILLANT, F.; IMBERT, E. Pitahaya (*Hylocereus spp.*): a new fruit crop, a market with a future. **Fruits**, v. 61, p. 237-250, 2006.

LEONG, H.Y.; OOI, C.W.; LAW, C.L.; JULKIFLE, A.L.; LING, T.C.; SHOW, P.L. Application of liquid biphasic flotation for betacyanins extraction from peel and flesh of *Hylocereus polyrhizus* and antioxidant activity evaluation. **Separation and Purification Technology**, v. 201, p. 156–166, 2018.

LI, X.; LONG, Q.; GAO, F.; HAN, C.; JIN, P.; ZHENG, Y. Effect of cutting styles on quality and antioxidant activity in fresh-cut pitaya fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 124, p.1–7, 2017.

LIMA, A.B.S.; QUEIROGA, I.M.B.N.; SILVA, G.M.S.; COSTA, J.S.; GUEDES, J.P.S.; DANTAS, C.O.; CAVALCANTI, M.T. Characterization and application of *Lippia alba* (Mill) and *Cymbopogon citratus* D.C. Stapf. essential oils as natural sanitizers in coriander. **Food Science and Technology**, v. 39, p. 993-998, 2019.

LIMA, C.A.; FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; COHEN, K.O.; GUIMARÃES, T.G. Características físico-químicas, polifenóis e flavonoides amarelos em frutos de espécies de pitaias comerciais e nativas do cerrado. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, p. 565-570, 2013.

LIN, W.S., HE, P.H.; CHAU, C.F.; LIOU, B.K.; LI S.; PAN, M.H. The feasibility study of natural pigments as food colorants and seasonings pigments safety on dried tofu coloring, **Food Science and Human Wellness**, v. 17, p. 220-228, 2018.

LIU, R.H. Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action. **The Journal of Nutrition**, v. 134, p. 3479-3485, 2004.

LIU, R.H. Dietary bioactive compounds and their health implications. **Journal of Food Science**, v. 78, p. 18-25, 2013.

LOURES, A.; JOKL, L. **Microtécnica para determinação de ácido oxálico em folhas e derivados**. In: Encontro nacional de analistas de alimentos. Resumos: Curitiba: Instituto de Tecnologia do Paraná, p. 59, 1990.

MAGALHÃES, D.S.; DA SILVA, D.M.; RAMOS, J.D.; SALLES PIO, L.A.; PASQUAL, M.; VILAS BOAS, E.V.B.; GALVÃO, E.C.; DE MELO, E.T. Changes in the physical and physico-chemical characteristics of red-pulp dragon fruit during its development. **Scientia Horticulturae**, v. 253, p. 180–186, 2019.

MAHAYOTHEE, B.; KOMONSING, N.; KHUWIJITJARU, P.; NAGLE, M.; MULLER, J. Influence of drying conditions on colour, betacyanin content and antioxidant capacities in dried red-fleshed dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*). **International Journal of Food Science and Technology**, v. 54, p. 460-470, 2018.

MAIA, G.A.; DA SILVA, L.M.R.; DO PRADO, G.M.; FONSECA, A.V.V.; DE SOUSA, P. H.M.; DE FIGUEIREDO, R.W. Development of Mixed Beverages Based on Tropical Fruits. **Non-Alcoholic Beverages**, v. 6, p. 129–162, 2019.

MARAPANA, R.A.U.J.; CHANDRASEKARA, C.M.K.V.; APONSO, M.M.W. Nutrient fortified king coconut water as an isotonic thirst quenching beverage for sports men and women. **International Journal of Chemical Studies**, v. 5, p. 1494-1498, 2017.

MARCO, G. J. A rapid method for evaluation of antioxidants. **Journal of the American Oil Chemistry Society**, v. 45, p. 594-598, 1968.

MARROQUIM, O.M.G.; BORGES, M.V.V.F.; COSTA, J.G.; SANTOS, A.F.; PANJWANI, C.M.B.R.G.; VANDERLEI, A.D. Análise das propriedades físico-químicas das bebidas à base de fruta e seu potencial erosivo no esmalte dental. **Diversitas Journal**, v. 4, p. 580-599, 2019.

MARTINS, Q.S.A.; BARROS, H.E.A.; SILVA, S.L.C.; GUALBERTO, S.A.; SILVA, M.V. Resíduos da indústria processadora de polpas de frutas: capacidade antioxidante e fatores antinutricionais. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, v. 12, p. 591-608, 2019.

MARTINS, R.C.; CHIAPETTA, S.C.; PAULA, F.D.; GONÇALVES, E.C.B.A. Avaliação da vida de prateleira de bebida isotônica elaborada com sucos concentrados de frutas e hortaliças congelado por 30 dias. **Alimentos e Nutrição**, v. 22, p. 623-629, 2011.

MEERSMAN, E.; STRUYF, N.; KYOMUGASHO, C.; JAMSAZZADEH KERMANI, Z.; SANTIAGO, J. S.; BAERT, E.; HEMDANE, S.; VRANCKEN, G.; VERSTREPEN, K.J.; COURTIN, C.M.; HENDRICKX, M.; STEENSELS, J. Characterization and Degradation of Pectic Polysaccharides in Cocoa Pulp. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 65, p. 9726–9734, 2017.

MELO NETO, B.A.; BONOMO, R.C.F.; FONTAN, R.C.I.; FERREIRA, A.C.R.; GONÇALVES, G.R.F.; MELLO, D.L.N. Physicalchemical characterization and thermophysical properties of cocoa honey. **Revista GEINTEC: Gestão, Inovacao e**

**Tecnologias**, v. 6, p. 2944-2953, 2016.

MENEZES, T.P.; RAMOS, J.D.; LIMA, L.C.O.; COSTA, A.C.; NASSUR, R.D.C.M.R.; RUFINI, J.C.M. Características físicas e físico-químicas de pitaia vermelha durante a maturação. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 36, p. 631-644, 2015.

MEYER, B.N.; FERRIGNI, N.R.; PUTNAM, J.E.; JACOBSEN, L.B.; NICHOLS, D.E.; MCLAUGHLIN, J.L. Brine shrimp, a conveniente general bioassay for active-plant constituents. **Planta Medica**, v. 45, p. 31-34, 1982.

MILLER, G.L. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. **Analytical Chemistry**, v. 31 p. 426-428, 1959.

MILLER, H.E. A simplified method for the evaluation of antioxidant. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 48, p.91, 1971.

NGUTA, J.M.; MBARIA, J.M.; GAKUYA, D.W.; GATHUMBI, P.K.; KABASA, J.D.; KIAMA, S.G. Evaluation of Acute Toxicity of Crude Plant Extracts from Kenyan Biodiversity using Brine Shrimp, *Artemia salina* L. (Artemiidae). **The Open Conference Proceedings Journal**, v. 3, p. 30-34, 2012.

NATESH, H.N.; ABBEY, L.; ASIEDU, S.K. An Overview of Nutritional and Antinutritional Factors in Green Leafy Vegetables. **Horticulture International Journal**, v. 1, p. 3-9, 2017.

NGMWONGLUMLERT, L.; DEVAHASTIN, S.; CHIEWCHAN, N. Natural colorants: pigment stability and extraction yield enhancement via utilization of appropriate pretreatment and extraction methods. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 57, p. 3243-3259, 2015.

NHI. National Institutes of Health. **Dietary Reference Intakes (DRIs): Recommended Dietary Allowances and Adequate Intakes, Elements**. Washington (DC): National Academies Press (US); 2011. Disponível em <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK56068/table/summarytables.t3/?report=objectonly>> . Acesso 04 de jan. de 2020.

NISSAR, J.; AHAD, T.; NAIK, H.R.; HUSSAIN, S.Z. A review phytic acid: As antinutrient or nutraceutical. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 6, p. 1554-1560, 2017.

NUNES, C.S.O.; DE CARVALHO, G.B.M.; DA SILVA, M.L.C.; DA SILVA, G.P.; MACHADO, B.A.S.; UETANABARO, A.P.T. Cocoa pulp in beer production: Applicability and fermentative process performance. **PLoS ONE**, v. 4, p. 1-12, 2017.

ORTIZ, T.A; TAKAHASHI, L.S.A. Physical and chemical characteristics of pitaya fruits at physiological maturity. **Genetics and Molecular Research**, v.14, p.14422-14439, 2015.

ORRÙ, S., IMPERLINI, E., NIGRO, E., ALFIERI, A., CEVENINI, A., POLITO, R., DANIELE, A., BUONO, P., MANCINI, A. Role of Functional Beverages on Sport Performance and Recovery. **Nutrients**, v. 10, p. 1470, 2018.

OYAIZU, M. Antioxidative activity of browning products of glucosamine fractionated by organic solvent and thin-layer chromatography. *Nippon Journal of the Japanese Society for*

**Food Science and Technology**, v. 35, p. 771-775, 1988.

PAZZINATO, K.; CARDOSO, C.K.S. Efeitos dos flavonoides do cacau na prevenção e no tratamento de doenças cardiovasculares: uma revisão de literatura. **Revista de Ciências Médicas**, v. 28, p. 85-98, 2019.

PETROVIĆ, S.; UŠJAK, L.; MILENKOVIĆ, M.; ARSENIJEVIĆ, J.; DROBAC, M.; DRNDAREVIĆ, A.; NIKETIĆ, M. Thymus dacicus as a new source of antioxidant and antimicrobial metabolites. **Journal of Functional Foods**, v. 28, p. 114–121, 2017.

PORFIRIO, M.C.P.; GONÇALVES, M.S.; BORGES, M.V.; LEITE, C.X.S.; SANTOS, M.R.C.; SILVA, A.G.; FONTAN, G.C.R.; LEÃO, D.J.; JESUS, R.M.; GUALBERTO, S.A.; LANNES, S.C.S.; SILVA, M.V. Development of isotonic beverage with functional attributes based on extract of *Myrciaria jaboticaba* (Vell) Berg. **Food Science and Technology**, Ahead of Print, 2019.

PRADO, M.A. GODOY, H.T. Corantes em Alimentos Artificiais. **Alimentos e Nutrição**, v. 14, p. 237-250, 2003.

PRASAD, K.; JACOB, S.; SIDDIQUI, M.W. Fruit Maturity, Harvesting, and Quality Standards. **Preharvest Modulation of Postharvest Fruit and Vegetable Quality**, p. 41–69, 2018.

PRIATNI, S.; PRADITA, A. Stability study of betacyanin extract from red dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) peels. **Procedia Chemistry**, v. 16, p. 438-444, 2015.

RAHIMI, P.; ABEDIMANESH, S.; MESBAH NAMIN, S.A.; OSTADRAHIMI, A. Betalains, the nature-inspired pigments, in health and diseases. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 59, p. 2949-2978, 2018.

RAIZEL, R.; COQUEIRO, A.Y.; BONVINI, A.; TIRAPEGUI, J. Sports and Energy Drinks: Aspects to Consider. **Sports and Energy Drinks**, v.10, p. 1–37, 2019.

RAMLI, N.S.; ISMAIL, P.; RAHMAT, A. Influence of Conventional and Ultrasonic-Assisted Extraction on Phenolic Contents, Betacyanin Contents, and Antioxidant Capacity of Red Dragon Fruit (*Hylocereus polyrhizus*). **The Scientific World Journal**, p. 1-7, 2014.

REBECCA, O.P.S.; BOYCE, A.N.; CHANDRAN, S. Pigment identification and antioxidant properties of red dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*). **African Journal of Biotechnology**, v. 9, p. 1450-1454, 2010.

REZA, M.S.A., HASAN, M.M., KAMRUZZAMAN, M., HOSSAIN, M.I., ZUBAIR, M.A., BARI, L., ABEDIN, M.Z., REZA, A., KHALID-BIN-FERDAUS, K.M., HAQUE, K.M.F., ISLAM, K., AHMED, M.U., HOSSAIN, M.K. Study of a common azo food dye in mice model: Toxicity reports and its relation to carcinogenicity. **Food Science & Nutrition**, v. 7, p. 667–677, 2019.

ROMANO, A; FERRANTI, P. Sustainable Crops for Food Security: Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). **Reference Module in Food Science**, p. 1-4, 2018.

RUFINO, M.S.M.; ALVES, R.E.; BRITO, E.S.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO,

- F.; MANCINI-FILHO, J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 121, p. 996-1002, 2010.
- RUIZ DE LOPE, C.; GARCÍA-VILLANOVA, R.J.; GARCÍA-VILLANOVA, R. Estudio del contenido en ácido fítico durante el proceso de elaboración del pan blanco, pan integral y pan ázimo. **Ars Pharmaceutica**, v. 23, p. 437-442, 1982.
- SADH, P.K.; DUHAN, S.; DUHAN, J.S. Agro-industrial wastes and their utilization using solid state fermentation: a review. **Bioresources and Bioprocessing**, v. 5, p. 1-15, 2018.
- SAKANAKA, S.; TACHIBANA, Y.; OKADA, Y. Preparation and antioxidant properties of extracts of Japanese persimmon leaf tea (*kakinoha-cha*). **Food Chemistry**, v. 89, p. 569-575, 2005.
- SAMAVARDHANA, K., SUPAWITITPATTANA, P., JITTREPOTCH, N., ROJSUNTOMKITTI, K., KONGBANGKERD, T. Effects of extracting conditions on phenolic compounds and antioxidant activity from different grape processing byproducts. **International Food Research Journal**, v. 23, p. 1169-1179, 2015.
- SANTOS, C.O., BISPO, E.S., SANTANA, L.R.R., CARVALHO, R.D.S. Use of “cocoa honey” (*Theobroma cacao L*) for diet jelly preparation: an alternative technology. **Revista Brasileira Fruticultura, Jaboticabal**, v. 36, p. 640-648, 2014.
- SANTOS, G.B.M.; DIONÍSIO, A.P.; MAGALHÃES, H.C.R.; ABREU, F.A.P.; LIRA, S.M.; LIMA, A.C.V., SILVA, G.S.; GUEDES, J.A.C.; ARAUJO, I.M.S.; ARTUR, A.G.; PONTES, D.F.; ZOCOLO, G.J. Effects of processing on the chemical, physicochemical, enzymatic and volatile metabolic composition of pitaya (*Hylocereus polyrhizus (F.A.C. Weber) Britton & Rose*), **Food Research International**, v. 127, 108710, 2019.
- SANTOS, E.S.M; ALVES, R.M.; LIMA, C.S. Elaboração tecnológica e aceitação sensorial de bebida isotônica orgânica de tangerina (*Citrus reticulata* Blanco). **Revista Instituto Adolf Lutz**, v. 72, p. 87-92, 2013.
- SANTOS, M.R.P V.; CASTRO, J.C.; MARDIGAN, L.P.; WATANABE, R.; CLEMENTE, E. Caracterização físico-química e enzimática de frutos de pitaya (*Hylocereus undatus*). **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 10, p. 2081-2095, 2016.
- SCHIASSI, M.C.E., SOUZA, V.R.D., LAGO, A.M.T., CAMPOS, L.G., QUEIROZ, F. Fruits From The Brazilian Cerrado Region: Physico-Chemical Characterization, Bioactive Compounds, Antioxidant Activities, And Sensory Evaluation. **Food Chemistry**, v. 245, p. 305-311, 2018.
- SHIGEMATSU, E.; FELIX, R.C.C.; SANTOS, G.P.DOS; ROSSATO, T.A.; OSHIWA, M.; DORTA, C. Estudo da vida de prateleira da bebida mista de goiaba com água de coco, sem adição de sacarose e conservantes. **Evidência**, v. 19, p. 149-166, 2019.
- SILVA, E.N., RAMOS, D.C., MENEZES, L.M., SOUZA, A.O., LANNES, S.C.S., SILVA, M.V. Nutritional value and antioxidant capacity of “cocoa honey” (*Theobroma cacao L.*). **Food Science Technology**, v. 34, p. 755-759, 2014.
- SILVA, M.R.G.; PAIVA, T.; SILVA, H.H. The Impact of Sports and Energy Drinks in

Performance. **Sports and Energy Drinks**, v. 10, p. 183-204, 2019.

SIMULESCU, V.; ILIA, G.; MACARIE, L.; MERGHES, P. Sport and energy drinks consumption before, during and after training. **Science & Sports**, v.39, p. 3-9, 2018.

SINHA, K.; KHARE, V. Review on: Antinutritional factors in vegetable crops. **The Pharma Innovation Journal**, v. 6, p. 353-358, 2017.

SLIMEN, I.B.; NAJAR, T.; ABDERRABBA, M. Chemical and Antioxidant Properties of Betalains. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 65, p. 675-689, 2017.

SOLLANEK, K.J.; KENEFICK, R.W.; CHEUVRONT, S.N. Osmolality of Commercially Available Oral Rehydration Solutions: Impact of Brand, Storage Time, and Temperature. **Nutrients**, v. 11, p. 1-10, 2019.

STINTZING, F.C.; SCHIEBER, A.; CARLE, R. Evaluation of colour properties and chemical quality parameters of cactus juices. **European Food Research and Technology**, v. 216, p. 303–311, 2003.

TAKACS, B.O.; NELLI, C.M.; ANJOS, L.P.; SOUZA, M.S.J.; CARVALHO, S.F.; XAVIER, T.; ALVARENGA, M.L. Avaliação do consumo de alimentos antioxidantes em atletas de handebol. **Revista Brasileira de Nutrição Esportiva**, v. 9, p. 491-497, 2015.

TAMER, C.E.; SUNA, S.; ÖZCAN-SINIR, G. Toxicological aspects of ingredients used in nonalcoholic beverages. **Non-alcoholic Beverages**, v. 6, p. 441-481, 2019.

TENORE, G.C.; NOVELLINO, E.; BASILE, A. Nutraceutical potential and antioxidant benefits of red pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) extracts. **Journal of Functional Foods**, v. 4, p. 129–136, 2012.

TIMONEDA, A.; FENG, T.; SHEEHAN, H.; WALKER-HALE, N.; PUCKER, B.; LOPEZ-NIEVES, S.; GUO, R.; BROCKINGTON, S. The evolution of betalain biosynthesis in Caryophyllales. **New Phytologist**, v. 224, p. 71–85, 2019.

TORMA, P.; DO, C.M.R.; BRASIL, A.V.S.; CARVALHO, A.V.; JABLONSKI, A.; RABELO, T.K; MOREIRA, J.C.F; GELAIN, D.P.; FLÔRES, S.H.; AUGUSTI, P.R.; RIOS, A.O. Hydroethanolic extracts from different genotypes of açai (*Euterpe oleracea*) presented antioxidant potential and protected human neuron-like cells (SH-SY5Y). **Food Chemistry**, v. 222, p. 94-104, 2017.

TSAI, Y.; LIN, C.G.; CHEN, W.L.; HUANG, Y.C.; CHEN, C.Y.; HUANG, K.F.; YANG, C.H. Evaluation of the Antioxidant and Wound-Healing Properties of Extracts from Different Parts of *Hylocereus polyrhizus*. **Agronomy**, v. 9, p. 1–11, 2019.

UTPOTT, M.; DICK, M.; RAMOS, J.C.; FERREIRA, R.S.; RIOS, A.O.; FLÔRES, S.H. Caracterização centesimal das pitayas de polpa vermelha (*Hylocereus polyrhizus*) e branca (*Hylocereus undatus*) produzidas no Rio Grande do Sul. **6º Simpósio de Segurança Alimentar**, Gramado, Rio Grande do Sul, 2018.

VALADÃO, N.K.; SHOMODA, S.Y.; JORY, J.C.; FRATASSO, G.C.; PETRUS, R.R. Stability of a dairy-based electrolyte replenishment beverage. **Food Science and Technology**,

v. 39, p. 824-829, 2019.

VIGO, C.L.S.; NARITA, E.; MARQUES, L.C. Validação da metodologia de quantificação espectrofotométrica das saponinas de *Pfafia glomerata* (Spreng) Pedersen – *Amaranthaceae*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.13, p. 46-49, 2003.

VILAS BOAS, E.V.B. **Qualidade de alimentos vegetais**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2002.

VINHA, A.F.; RODRIGUES, F.; NUNES, A.; OLIVEIRA, B.P.P. Natural pigments and colorants in foods and beverages. **Polyphenols: Properties, Recovery, and Applications**, p. 363-391, 2018.

VOULO, M.M; LIMA, V.S.; MARÓSTICA JÚNIOR, M.R. Phenolic Compounds: Structure, Classification, and Antioxidant Power. Chapter 2. **Bioactive Compounds**, p. 33-50, 2019.

WONG, Y.M.; SIOW, L.F. Effects of heat, pH, antioxidant, agitation and light on betacyanin stability using red-fleshed dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) juice and concentrate as models. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, p. 3086–92, 2015.

WHO. World Health Organization. **Food Additives Series N° 73**. Prepared by the eighty-second meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). Safety evaluation of certain food additives, World Health Organization, Geneva, 2017. Disponível em < <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/258934/9789241660730-eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y>>. Acesso 10 de jan. de 2020.

WHO. World Health Organization. **Food Additives Series N° 50**. Safety Evaluation of Certain Food Additives. Fifty-ninth meeting of the Joint FAO/WHO. Expert Committee on Food Additives (JECFA), Geneva, 2003. Disponível em <<http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v50je07.htm>>. Acesso 03 de jan. de 2020.

WHO. World Health Organization. **Guideline: sugars intake for adults and children**. Geneva, 2015. Disponível em < [https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/149782/9789241549028\\_eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/149782/9789241549028_eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y)>. Acesso 12 de jan. de 2020.

WU, L.; HSU, H.; CHEN, Y.; CHIU, C.; LIN, Y.; HO, J.A. Antioxidant and antiproliferative activities of red pitaya. **Food Chemistry**, v. 95; p. 319–327, 2006.

WYSPIAŃSKA, D.; KUCHARSKA, A.Z.; SOKÓŁ-ŁĘTOWSKA, A.; KOLNIAK-OSTEK, J. Effect of microencapsulation on concentration of isoflavones during simulated in vitro digestion of isotonic drink. **Food Science & Nutrition**, v. 7, p. 1-12, 2019.

ZANONI, M.V.; YAMANAKA, H. Corantes: caracterização química, toxicológica, métodos de detecção e tratamento. **Corantes: classificação e propriedades**. 1ª ed., São Paulo: Cultura Acadêmica, 2016.

ZHENG, W.; WANG, S.Y. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 5165-5170, 2001.

## APÊNDICE I

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Resolução nº 466, de 12 de dezembro de 2012, Conselho Nacional de Saúde.

#### Convite para participação na Análise Sensorial

Convidamos você a participar como provador do experimento de pesquisa de Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos cujo objetivo é obter produtos com a utilização de resíduos da agroindústria.

Responsáveis por esta pesquisa: Mariana Romana Correia Santos e Professor Marcondes Viana da Silva, UESB – Itapetinga-BA.

**Objetivo desta pesquisa:** Avaliar a aceitação sensorial de bebida isotônica a base de mel de cacau e pitaya vermelha.

**Benefícios:** Utilização de resíduos da agroindústria (casca de pitaya vermelha) como potenciais antioxidantes naturais, produto para repor eletrólitos perdidos durante a prática do exercício.

**Riscos:** Existem riscos decorrentes de contaminações de origem microbiana, porém todas as amostras foram elaboradas obedecendo às condições higiênico-sanitárias adequadas segundo a legislação vigente. Se o participante apresentar alergia, intolerância ou doença pré-existente a algum tipo de ingrediente (mel de cacau, extratos da polpa e casca de pitaya vermelha, sacarose, ácido cítrico, benzoato de sódio, sorbato de potássio, cloreto de sódio), sua participação será dispensada. Caso a alergia ou desconforto se manifeste no período da pesquisa, o participante será imediatamente excluído do estudo e encaminhado para a Unidade de Saúde da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia para que sejam tomadas as devidas providências.

**Confiabilidade:** As informações desta pesquisa são confidenciais e divulgadas apenas em eventos ou publicações científicas, não havendo identificação dos voluntários, a não ser entre os responsáveis pelo estudo, sendo assegurado o sigilo sobre sua participação. Qualquer esclarecimento ou dúvida podem ser sanados durante todo o período da pesquisa pelos pesquisadores responsáveis ou com o Conselho de Ética em Pesquisa.

A participação nesta pesquisa é de caráter voluntário, assim, nenhum participante será remunerado e, por isso, possui garantia de plena liberdade, ou seja, de recusar-se a participar, sem penalização alguma.

Caso aceite participar desta pesquisa, este documento precisará ser assinado em duas vias, sendo que uma das vias ficará com o participante da pesquisa e a outra será arquivada pelos pesquisadores por cinco anos. Sua participação é de extrema importância para nós.

Ciente e de acordo com o que foi exposto, eu  
\_\_\_\_\_, portador RG/CPF  
nº \_\_\_\_\_, estou de acordo em participar desta pesquisa, assinando este consentimento.

\_\_\_\_\_  
**Assinatura (participante)**

\_\_\_\_\_  
**Assinatura (pesquisador)**

**Contato institucional:**

Núcleo Estudos em Ciência de Alimentos, UESB,  
Itapetinga - BA. Tel.: (77) 3261-8461  
Email: [mviana@edu.uesb.br](mailto:mviana@edu.uesb.br)

**Informações ou dúvidas sobre Ética em Pesquisa:**

Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (CEP)  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB)  
Cruz das Almas –BA; CEP: 44.380-000  
Tel.: (75) 3621-6850  
E-mail: [eticaempesquisa@ufrb.edu.br](mailto:eticaempesquisa@ufrb.edu.br)

## APÊNDICE II

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA – UESB**  
**Campus Juvino Oliveira**  
**Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos**

### Questionário

Nome: \_\_\_\_\_ Data / /  
Sexo: ( ) Feminino ( ) Masculino Idade: \_\_\_\_\_

1) Você conhece o mel de cacau? ( ) sim ( ) não

Se sim, já experimentou o mel de cacau? ( ) sim ( ) não

2) Você tem hábito de consumir bebida isotônica:

( ) menos de 1 vez por mês ( ) 1 a 2 vezes por mês ( ) 1 vez por semana

( ) 2 a 3 vezes por semana ( ) 4 vezes ou mais por semana ( ) todos os dias

( ) nunca

3) Em qual momento da prática da atividade física, você consome a bebida isotônica:

( ) antes da atividade física ( ) durante a atividade física ( ) durante e depois a atividade física

( ) depois da atividade física

4) Além do ciclismo, qual outra atividade física você pratica: \_\_\_\_\_

5) Qual a frequência da prática de atividade física?

( ) menos de 1 vez por mês ( ) 1 a 2 vezes por mês ( ) 1 vez por semana

( ) 2 a 3 vezes por semana ( ) 4 vezes ou mais por semana ( ) todos os dias

### APÊNDICE III

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA – UESB**  
**Campus Juvino Oliveira**  
**Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos**

#### Ficha de Aceitação

Nome: \_\_\_\_\_ Data:    /    /  
Sexo: ( ) Feminino ( ) Masculino Idade: \_\_\_\_\_

**AMOSTRA n°** \_\_\_\_\_

1. Você está recebendo 5 amostras de bebida isotônica de mel de cacau e pitaya vermelha. Por favor, prove a amostra, iniciando da esquerda para direita, e entre uma prova e outra beba um pouco de água e aguarde 30 segundos. Avalie a escala abaixo marcando um “X” na opção que você gostou ou desgostou dos atributos deste produto:

<b>COR</b>	<b>SABOR</b>	<b>GOSTO DOCE</b>	<b>SABOR DO MEL DE CACAU</b>
( ) Gostei extremamente	( ) Gostei extremamente	( ) Muito mais doce que o ideal	( ) Muito mais intenso que o ideal
( ) Gostei muito	( ) Gostei muito	( ) Mais doce que o ideal	( ) Mais intenso que o ideal
( ) Gostei moderadamente	( ) Gostei moderadamente	( ) Ideal	( ) Ideal
( ) Gostei ligeiramente	( ) Gostei ligeiramente	( ) Menos doce que o ideal	( ) Menos intenso que o ideal
( ) Indiferente	( ) Indiferente	( ) Muito menos doce que o ideal	( ) Muito menos intenso que o ideal
( ) Desgostei ligeiramente	( ) Desgostei ligeiramente		
( ) Desgostei moderadamente	( ) Desgostei moderadamente		
( ) Desgostei muito	( ) Desgostei muito		
( ) Desgostei extremamente	( ) Desgostei extremamente		

Comentários: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

2. Agora, indique através da escala abaixo o grau de certeza de que compraria ou não o produto:

( ) Certamente compraria      ( ) Compraria      ( ) Talvez      ( ) Não compraria

Comentários: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_