



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS – PPGCTA UFPB**

GRACIETE DE SOUZA SILVA

**POTENCIAL TECNOLÓGICO E NUTRICIONAL
DE BEBIDA ISOTÔNICA PRODUZIDA COM SORO DE
RICOTA E POLPA DE MARACUJÁ-DA-CAATINGA
“BRS SERTÃO FORTE”**

**JOÃO PESSOA - PB
2021**

GRACIETE DE SOUZA SILVA

POTENCIAL TECNOLÓGICO E NUTRICIONAL
DE BEBIDA ISOTÔNICA PRODUZIDA COM SORO DE
RICOTA E POLPA DE MARACUJÁ-DA-CAATINGA
“BRS SERTÃO FORTE”

JOÃO PESSOA - PB
2021

GRACIETE DE SOUZA SILVA

POTENCIAL TECNOLÓGICO E NUTRICIONAL
DE BEBIDA ISOTÔNICA PRODUZIDA COM SORO DE
RICOTA E POLPA DE MARACUJÁ-DA-CAATINGA
“BRS SERTÃO FORTE”

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Centro de Tecnologia, Universidade Federal da Paraíba, em cumprimento aos requisitos para obtenção do título de Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Dr.^a Haíssa Roberta Cardarelli

Coorientadora: Dr.^a Graciele da Silva Campelo Borges

JOÃO PESSOA - PB
2021

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

S586p Silva, Graciete de Souza.

Potencial tecnológico e nutricional de bebida isotônica

produzida com soro de ricota e polpa de maracujá-da-caatinga "BRS Sertão Forte" / Graciete de Souza Silva.
- João Pessoa - PB, 2021.

83 f.

Orientação: Haíssa Roberta Cardarelli.

Coorientação: Graciele da Silva Campelo Borges.

Tese (Doutorado) - UFPB/CT.

1. Tecnologia de alimentos. 2. Passiflora cincinnata.
3. Soro de leite. 4. Suplemento hidroeletrólítico. I.
Cardarelli, Haíssa Roberta. II. Borges, Graciele da
Silva Campelo. III. Título.

UFPB/BC

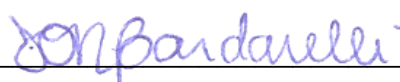
CDU 663(043)

GRACIETE DE SOUZA SILVA

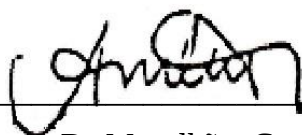
**POTENCIAL TECNOLÓGICO E NUTRICIONAL DE BEBIDA ISOTÔNICA
PRODUZIDA COM SORO DE RICOTA E POLPA DE MARACUJÁ-DA-
CAATINGA “BRS SERTÃO FORTE”**

Tese aprovada em 30 de Setembro de 2021.

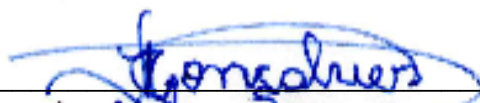
BANCA EXAMINADORA



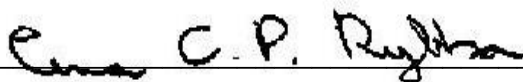
Prof. Dra. Haíssa Roberta Cardarelli – PPGCTA / CT / UFPB
Orientadora / Presidente da banca examinadora



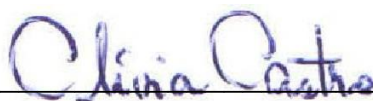
Prof. Dra. Ângela Maria Tribuzy De Magalhães Cordeiro – PPGCTA / CT / UFPB
Examinador interno



Prof. Dra. Mônica Correia Gonçalves – CCTA/UATA/UFCG
Examinador externo



Dra. Ana Cecília Poloni Rybka – EMBRAPA SEMIÁRIDO
Examinador externo



Dra. Clívia Danúbia Pinho da Costa Castro – EMBRAPA SEMIÁRIDO
Examinador externo

**Aos meus pais, Francisco e Madalena,
que mesmo não tendo a oportunidade de estudar,
mostraram aos seus filhos que a educação é o caminho
mais seguro para construir um futuro melhor.**

EU DEDICO.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela graça de iniciar e concluir mais um projeto em minha vida.

Às minhas irmãs: Rê, Menso, Fran e Graciene, pelo carinho em muitos momentos e por verdadeiramente torcerem pelo meu sucesso.

Aos queridos técnicos de Laboratório do CTDR: José Carlos Alves, Alline Pontes, Cláudia Rodrigues e Bosco Amaral; e Embrapa Semiárido: Cláudio Correa e Hélio Barbosa, pela colaboração e apoio.

À Joyce Emanuely e Prof. Francisco Hevilásio do Laboratório de Fisiologia Vegetal (UFCG – Pombal), pelo apoio na realização dos testes iniciais de osmolalidade.

À equipe do Laboratório de Análise de Solo e Planta do IF Sertão PE – *Campus Zona Rural*, pela disponibilidade na realização das análises de minerais.

Às alunas de Iniciação Científica, Nayana Silva e Teresa Simões, por toda contribuição nas atividades laboratoriais.

Aos colegas do grupo de pesquisa: Nkarte, Honório, Cibelly, Aline e Ricácia, pelo apoio durante os experimentos.

Aos que dividiram momentos valiosos durante a minha jornada em *Jampa*:

Tay, Karol, Lary, Elton, Henrique, Dani e Bianca, pelos momentos de descontração e suporte psicológico muitas vezes. Vocês tornaram meus dias mais leves e divertidos.

E à família linda que ganhei nessa cidade - Sr. Edman, Vera, Kaline, Camila, Maria e Nícolas. Muito obrigada por tanto carinho e acolhimento!

Em especial, agradeço a Prof.^a Haíssa Cardarelli, a qual externo minha admiração pela competência como profissional e minha eterna gratidão por tão bem me acolher e conduzir nesse processo de formação.

À Prof.^a Graciele Borges, pela disponibilidade de coorientação, por todos os ensinamentos, pela dedicação e comprometimento com a pesquisa.

À Embrapa Semiárido pela parceria no desenvolvimento do trabalho. Em especial, ao Dr. Saulo Aidar, por acolher a proposta do projeto e intermediar a cooperação com a UFPB.

À Prof.^a Rita Queirorga (*in memoriam*) e demais membros examinadores da minha qualificação e defesa, pelas correções e sugestões nelas apresentadas.

À CAPES / FAPESQ pelo auxílio financeiro.

**“Quem elegeu a busca não pode recusar a travessia.
A vida é assim: esquenta e esfria, aperta e daí afrouxa, sossega e depois
desinquieta. O que ela quer da gente é coragem.
[...] E eu só preciso de pés livres, de mãos dadas e olhos bem abertos!”**

Guimarães Rosa

RESUMO

Bebidas isotônicas são suplementos destinados à hidratação e reposição de eletrólitos. Por serem produtos associados ao esporte e uma vida saudável, a adição de ingredientes naturais em suas formulações pode despertar maior interesse pelos consumidores em relação às bebidas comerciais, que são muitas vezes produzidas com sabor e aroma artificial. O soro de Ricota é fonte de minerais e lactose e tem baixo valor calórico, o que o torna uma matéria-prima promissora para elaboração isotônicos. A adição de polpas de frutas nestas bebidas pode contribuir para agregação de valor nutricional, compostos bioativos benéficos à saúde, além de melhorar características sensoriais. O maracujá ‘BRS Sertão Forte’ é rico em minerais e compostos antioxidantes, podendo ajudar na reposição de eletrólitos e contribuir para o equilíbrio redox do organismo. Assim, este estudo objetivou desenvolver uma bebida isotônica a base de soro de Ricota e polpa de maracujá cv. BRS Sertão Forte. Inicialmente, realizou-se um mapeamento de patentes no qual foi identificado que ainda há um baixo percentual de inovação relacionada ao uso de soro de leite na elaboração desse tipo de bebida. A composição físico-química, compostos bioativos e o potencial antioxidante das polpas de maracujá em diferentes estádios de maturação foram avaliadas, a fim de definir a melhor condição para elaboração do isotônico. Independente do grau de maturação, os frutos são excelentes fontes de K, Ca e Na, e compostos bioativos como ácido ascórbico, isoquercetina e rutina, os quais contribuem para sua alta atividade antioxidante. Comparando-se as polpas maduras de maracujá com as polpas com maturação intermediária, as primeiras exibiram maior conteúdo de K ($413,34 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$), conteúdo semelhante de Na ($16,39 - 16,70 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$), maior razão sólidos solúveis / acidez titulável (3,21), maior teor de ácido ascórbico ($17,67 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$) e de compostos fenólicos como rutina ($7,46 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$), ácido gálico ($6,07 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$) e ácido *p*-cumárico ($3,55 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$), e por isso foram escolhidas para elaboração das bebidas. Três formulações foram elaboradas: I1 – 50% de soro de Ricota, 5% de polpa de maracujá e 3% de sacarose; I2 – 50% de soro, 8,5% de polpa e 3% de sacarose; I3 – 30% de soro, 12% de polpa e 5% de sacarose. I3 apresentou maior conteúdo de ácido ascórbico ($3,03 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$) e atividade antioxidante ($74,98$ a $150,49 \text{ } \mu\text{Mol TEAC } 100 \text{ mL}^{-1}$), obteve maior aceitação no teste de consumidor e manteve sua estabilidade físico-química e segurança microbiológica durante armazenamento a $7 \text{ } ^\circ\text{C}$ por 56 dias. Os principais compostos fenólicos quantificados nas bebidas foram (-)-galato de epicatequina ($3,57$ a $6,13 \text{ mg L}^{-1}$), (-)-galato de epigallocatequina ($2,46$ a $3,17 \text{ mg L}^{-1}$), e *cis*-resveratrol ($1,43$ a $2,33 \text{ mg L}^{-1}$). I1 e I3 exibiram alta bioacessibilidade dos minerais K, Na e Mg (37% a 70%) em comparação com I2 (31 a 40%). Ademais, as bebidas apresentaram boa aceitação sensorial, são boas fontes de compostos bioativos e minerais bioacessíveis e constituem alternativas inovadoras para o mercado de suplementos para atletas.

Palavras-chave: *Passiflora cincinnata*. Soro de leite. Suplemento hidroeletrólítico.

ABSTRACT

Isotonic beverages are supplements intended for hydration and electrolyte replacement. As products commonly associated with sports and healthy living, the addition of natural ingredients in their formulations can arouse greater interest among consumers than commercial beverages, which are often produced with artificial flavor and aroma. Ricotta whey is a source of minerals and lactose and has low caloric value, which makes it a promising raw material for the production of isotonic beverages. The addition of fruit pulp to these drinks can contribute to the addition of nutritional value, bioactive compounds beneficial to health, and improve sensory characteristics. The passion fruit 'BRS Sertão Forte' is a variety of passion fruit native to the Caatinga, rich in minerals and antioxidant compounds, which can help replace electrolytes and contribute to the redox balance of the body. Thus, this study aimed to develop an isotonic beverage based on Ricotta whey and passion fruit pulp cv. BRS Sertão Forte. Initially, a mapping of patents was performed in which it was identified that there is still a low percentage of innovation related to the use of whey in the preparation of this type of drink. The physical-chemical composition, bioactive compounds, and antioxidant potential of passion fruit pulp at different stages of maturity were evaluated to define the best condition for the elaboration of the isotonic beverage. Regardless of the degree of ripeness, the fruits are excellent sources of K, Ca, and Na, and bioactive compounds such as ascorbic acid, isoquercetin and rutin, which contribute to their high antioxidant activity. Mature passion fruit pulps, compared to intermediate stage pulps, exhibited higher K content ($413.34 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$), similar Na content (16.39 and $16.70 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$), higher soluble solids / titratable acidity ratio (3, 21), higher ascorbic acid content ($17.67 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$) and phenolic compounds such as rutin ($7.46 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$), gallic acid ($6.07 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$) and p -coumaric acid ($3.55 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$), and were therefore chosen for beverage preparation. Three formulations were prepared: I1 - 50% Ricotta whey, 5% passion fruit pulp and 3% sucrose; I2 - 50% whey, 8.5% pulp and 3% sucrose; I3 - 30% whey, 12% pulp and 5% sucrose. I3 presented higher ascorbic acid content ($3.03 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$) and antioxidant activity (74.98 to $150.49 \text{ } \mu\text{Mol TEAC } 100 \text{ mL}^{-1}$), obtained greater acceptance in the consumer test and maintained its physicochemical stability and microbiological safety during storage at $7 \text{ }^{\circ}\text{C}$ for 56 days. The main phenolic compounds quantified in the beverages were (-)-epicatechin gallate (3.57 to 6.13 mg L^{-1}), (-)-epigallocatechin gallate (2.46 to 3.17 mg L^{-1}), and *cis*-resveratrol (1.43 to 2.33 mg L^{-1}). I1 and I3 exhibited high bioaccessibility of minerals K, Na, and Mg (37% to 70%) compared to I2 (31 to 40%). Furthermore, the beverages presented good sensory acceptance, are good sources of bioactive compounds and bioaccessible minerals, and constitute innovative alternatives for the market of supplements for athletes.

Keywords: *Passiflora cincinnata*. Whey. Hydroelectrolytic supplement.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Maracujá-da-caatinga cv. BRS Sertão Forte no estágio de maturação intermediário (A) e maduro (B)..... 29

Figura 2 - Delineamento do Estudo..... 31

ARTIGO 3: Mineral bioaccessibility, phenolic compounds and antioxidant activity of new sport drink with ricotta cheese whey and passion fruit cv. BRS Sertão Forte.

Fig. 1. Antioxidant capacity by ORAC, FRAP and DPPH methods of isotonic beverage. Isotonic beverages - I1: 50% RCW, 5% passion fruit pulp, 3% sucrose; I2: 50% RCW, 8,5% passion fruit pulp, 3% sucrose; I3: 30% RCW, 12% passion fruit pulp, 5% sucrose. Grouped columns followed by the different letters showed significant differences ($p \leq 0.05$) by Tukey's test..... 65

Fig. 2. Results of the consumer test: (A) Consumer acceptability of the appearance, aroma, flavor and overall acceptability of the isotonic beverages, using the nine-point hedonic scale (1 = disliked extremely; 5 = neither like nor disliked; 9 = liked extremely). (B) Purchase intention of the isotonic beverages: 1 = certainly would not buy, 2 = possibly would not buy, 3 = have doubts if I would buy, 4 = possibly would buy and 5 = certainly would buy". Values are expressed as mean ($n = 50$) $\pm$ SD. Grouped columns followed by the different letters showed significant differences ($p \leq 0.05$) by the Tukey means test. Isotonic beverages: I1 = 50% RCW, 5% passion fruit pulp, 3% sucrose; I2 = 50% RCW, 8.5% passion fruit pulp, 3% sucrose; I3 = 30% RCW, 12% passion fruit pulp, 5% sucrose. 69

Fig. 3. Physicochemical parameters of the isotonic beverage (I3) stored at $7 \pm 2^\circ \text{C}$: **(A)** Total acidity (% lactic acid); **(B)** pH; **(C)** Osmolality (mOsmo Kg^{-1}). Values are expressed as mean ($n = 9$) $\pm$ SD. The values of the same line following different letters showed significant differences ($p \leq 0.05$) by Tukey's test..... 70

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Formulações de Bebida Isotônica	37
---	----

ARTIGO 3: Mineral bioaccessibility, phenolic compounds and antioxidant activity of new sport drink with ricotta cheese whey and passion fruit cv. BRS Sertão Forte

Table 1 - Isotonic beverages formulations.....	57
Table 2 - Physicochemical characterization of isotonic beverages	62
Table 3 - HPLC-DAD phenolic compounds of isotonic beverages.....	64
Table 4 - Mineral content and in vitro bioaccessibility of isotonic beverage.....	67
Table S1 - Physicochemical composition, mineral profile and antioxidant activity of Ricotta cheese whey	74
Table S2 - Spearman correlation between protein content, ascorbic acid and phenolic compounds with in vitro antioxidant activity of the isotonic beverages measured by the ORAC, FRAP and DPPH assays.....	75

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2. OBJETIVOS	16
2.1 OBJETIVO GERAL	16
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
3. REVISÃO DA LITERATURA	17
3.1 REPOSITORES HIDROELETROLÍTICOS	17
3.1.1 COMPONENTES DOS REPOSITORES HIDROELETROLÍTICOS	18
3.1.1.1 CARBOIDRATOS	18
3.1.1.2 ELETRÓLITOS	19
3.1.1.3 OUTROS INGREDIENTES	20
3.1.2 ESTUDOS COM REPOSITORES HIDROELETROLÍTICOS	21
3.2 SORO DE RICOTA	23
3.3 MARACUJÁ (<i>Passiflora spp.</i>)	27
3.3.1 <i>Passiflora cincinnata</i> Mast	27
4 MATERIAIS E MÉTODOS	31
4.1 LOCAL DE EXECUÇÃO E DELINEAMENTO DO ESTUDO	31
4.2 OBTENÇÃO DA POLPA DE MARACUJÁ-DA-CAATINGA	32
4.3 OBTENÇÃO DO SORO DE RICOTA	32
4.4 COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DAS MATÉRIAS-PRIMAS	33
4.4.1 ANÁLISES REALIZADAS NO SORO DE RICOTA	33
4.4.2 ANÁLISES REALIZADAS NA POLPA	35
4.5 DESENVOLVIMENTO DAS FORMULAÇÕES DE ISOTÔNICO	37
4.6 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS E MICROBIOLÓGICAS	37
4.7 DIGESTÃO GASTROINTESTINAL <i>IN VITRO</i> DE MINERAIS	38
4.8 ANÁLISE SENSORIAL	39
4.9 ESTABILIDADE DAS BEBIDAS DURANTE O ARMAZENAMENTO	39
4.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA	40
REFERÊNCIAS	41
RESULTADOS	51
ARTIGO 1 – ESTUDO PROSPECTIVO SOBRE BEBIDAS ISOTÔNICAS	52
ARTIGO 2 – PHYSICO-CHEMICAL QUALITY, BIOACTIVE COMPOUNDS AND IN VITRO ANTIOXIDANT ACTIVITY OF A NEW VARIETY OF	

PASSION FRUIT CV. BRS SERTÃO FORTE (<i>Passiflora cincinnata</i> Mast.) FROM BRAZILIAN SEMIARID	53
CONCLUSÕES GERAIS	81
APÊNDICE 1 - FORMULÁRIO DE ANÁLISE SENSORIAL	82
APÊNDICE 2 - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO....	83

1 INTRODUÇÃO

A nutrição e o bem-estar da saúde são áreas de interesse crescente nos mercados globais de novos desenvolvimentos de bebidas, inclusive daquelas direcionadas ao público de esportistas, que são formuladas para atender necessidades específicas como hidratação e aumento de energia (RAIZEL et al., 2019). Os isotônicos fazem parte desse grupo de bebidas e são suplementos formulados com a finalidade de repor rapidamente os fluidos corporais e eletrólitos perdidos por atletas e outros indivíduos expostos a atividades físicas intensas (MARAPANA, CHANDRASEKARA e APONSO, 2017).

O desenvolvimento de novas formulações de isotônicos pode contribuir com o avanço no setor de bebidas esportivas, favorecendo seu consumo e comercialização. Além disso, esses produtos podem ser obtidos a partir do processamento de subprodutos como o soro de leite gerado na fabricação da Ricota, que apesar do alto valor nutritivo ainda apresenta poucas alternativas de uso no setor alimentício.

Grandes volumes do soro de Ricota são obtidos mundialmente, já que o rendimento da Ricota é geralmente muito baixo, resultando em até 97% de soro. Esse subproduto ainda é considerado um resíduo poluente devido a sua alta carga orgânica, e sua eliminação gera um custo adicional para indústria leiteira, que necessita de alternativas para seu melhor aproveitamento (PIRES et al., 2021). A utilização do soro de Ricota na elaboração de bebida isotônica foi reportada em estudo anterior (Valadão et al., 2016), entretanto, a adição de polpas de frutas não foi evidenciada. Por serem produtos associados ao esporte e a uma vida saudável, a incorporação de polpas de frutas como flavorizantes naturais às bebidas isotônicas é uma alternativa mais atrativa para o consumidor, visto que contribui para agregar valor nutricional, compostos bioativos benéficos à saúde, além de melhorar suas características sensoriais (TOMCZYK, ZAGUŁA e DŻUGAN, 2020).

O maracujá cv. BRS Sertão Forte é uma versão melhorada geneticamente do maracujá nativo da Caatinga. Essa nova variedade apresenta maior produtividade e tamanho e pode ampliar sua aceitação comercial na medida em que forem apresentadas novas perspectivas de exploração. O fruto apresenta sabor exótico e agradável, além de ser fonte de minerais e compostos antioxidantes (SANTOS et al., 2021; SILVA et al., 2020), os quais podem ajudar na reidratação do atleta e contribuir para evitar o dano muscular e oxidativo que a atividade física pode gerar (ALI et al., 2021).

Neste sentido, o presente estudo buscou demonstrar o potencial tecnológico e nutricional do aproveitamento de um subproduto com baixo valor calórico e alto conteúdo de minerais na produção de um suplemento isotônico. Além disso, buscou agregar ao produto formulado os benefícios nutricionais de uma fruta nativa da região Nordeste, de cultivo resistente ao ataque de pragas, o que dispensa o uso de agrotóxicos, possibilitando o interesse industrial.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver uma formulação de bebida isotônica a partir do aproveitamento do soro de Ricota e adição de maracujá-da-Caatinga (*Passiflora cincinnata* Mast. cv. BRS Sertão Forte) como flavorizante.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Investigar o potencial de inovação do desenvolvimento da bebida isotônica a base de soro de Ricota e maracujá cv. BRS Sertão Forte.
- ✓ Determinar a composição físico-química, perfil de minerais, compostos bioativos e atividade antioxidante da polpa de maracujá 'BRS Sertão Forte' em diferentes estádios de maturação adequados ao consumo.
- ✓ Obter formulações de bebidas isotônicas adequadas às exigências legais brasileiras relacionadas aos suplementos para praticantes de atividade física.
- ✓ Caracterizar as bebidas desenvolvidas quanto a composição físico-química, compostos bioativos e atividade antioxidante *in vitro*.
- ✓ Investigar o conteúdo de minerais e sua bioacessibilidade nas bebidas isotônicas.
- ✓ Determinar a aceitação sensorial das bebidas desenvolvidas por consumidores habituais de isotônicos.
- ✓ Verificar a estabilidade físico-química e segurança microbiológica da formulação de isotônico com melhor aceitação nos testes sensoriais, durante o armazenamento.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1 REPOSITORES HIDROELETROLÍTICOS

A busca por saúde e melhor qualidade de vida tem provocado mudanças importantes no estilo de vida das pessoas, que passaram a se exercitar mais ao longo do tempo. Diante disso, um número cada vez maior de atletas e praticantes de atividades físicas tem sido observado, o que reflete no aumento da demanda por produtos que atendam necessidades específicas como o aumento de energia, rápida hidratação e reposição de sais (MALABARBA, 2017; RAIZEL, et al., 2019).

A prática de atividades físicas leva à aceleração do metabolismo, fazendo com que os estoques de líquidos e substratos do corpo (por exemplo, glicogênio muscular / hepático) sejam progressivamente reduzidos durante o exercício prolongado, com aumento da produção de calor e consequente dissipação do mesmo pelo suor, resultando na perda de água e eletrólitos (THOMAS, ERDMAN e BURKE, 2016). Quando estas perdas não são compensadas o organismo pode sofrer desidratação, aumentando os riscos de exaustão e choque térmico, complicações na função renal e câimbras musculares, além de afetar o desempenho do exercício físico. Os indivíduos são encorajados a consumir bebidas isotônicas para restaurar rapidamente as perdas, dada a sua capacidade de fornecer líquido e nutrientes em concentrações balanceadas, que podem atenuar ou prevenir muitos desses distúrbios, ajudando a manter a homeostase fisiológica (MCCARTNEY, DESBROW e IRWIN, 2018)

As bebidas isotônicas correspondem a uma categoria específica da indústria de bebidas, destinadas a reposição de fluidos e eletrólitos que são perdidos pela transpiração durante o exercício e ao fornecimento de carboidratos para repor os estoques de glicogênio, sustentando assim a capacidade de desempenho (RAIZEL et al., 2019). Estes repositores hidroeletrólíticos, são assim intitulados devido à equivalência entre sua pressão osmótica e as condições de pressão osmótica sanguínea, o que possibilita uma rápida ação de reposição de sais e líquidos e consequente aumento da velocidade de absorção de nutrientes (COLAKOGLU et al., 2016).

Segundo dados da Associação Brasileira das Indústrias de Refrigerantes e de Bebidas não Alcoólicas (ABIR, 2021), o volume de produção de isotônicos no Brasil atingiu 121.616 L em 2019, um aumento de 14,5% em relação ao ano anterior. Entretanto, o consumo *per capita* deste tipo de bebida não apresentou grandes alterações, variando entre 0,48 e 0,58 L/habitante/ano, entre os anos de 2015 e 2019. Neste sentido, o

desenvolvimento de formulações inovadoras de bebidas isotônicas, com componentes naturais e novos sabores, pode contribuir com o avanço no setor de suplementos para esportistas, aumentando o consumo e comercialização destes produtos.

De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA, as bebidas isotônicas fazem parte da categoria de suplementos hidroeletrólíticos para atletas e são produtos destinados a auxiliar a hidratação (BRASIL, 2010).

A Instrução Normativa mais recente sobre estes produtos, IN nº 28 de julho de 2018 (BRASIL, 2018.a), estabelece que a alegação de isotônico é restrita aos suplementos alimentares que apresentem as seguintes características de composição:

- “a) apresentem osmolalidade entre 270 e 330 mOsm/kg de água;
- b) forneçam carboidratos como principal fonte de energia;
- c) contenham no mínimo 80 kcal/L e no máximo 350 kcal/L;
- d) contenham no mínimo 75% da energia derivada de carboidratos metabolizáveis;
- e) contenham no mínimo 20 mmol/L (460 mg/L) e máximo 50 mmol/L (1150 mg/L) de sódio (na forma de Na⁺).”

Geralmente, os isotônicos apresentam concentrações de eletrólitos semelhantes ao plasma sanguíneo humano (285 a 295 mOsm/L) e possuem baixas quantidades de carboidratos se comparados com outras bebidas como sucos e refrigerantes, evitando a sobrecarga do aparelho digestivo.

3.1.1 COMPONENTES DOS REPOSITORES HIDROELETROLÍTICOS

3.1.1.1 CARBOIDRATOS

Os carboidratos são fontes de combustíveis para os músculos e o cérebro e contribuem para a palatabilidade das bebidas esportivas. É conhecido que o consumo de carboidratos pode trazer benefícios ao desempenho em uma série de eventos esportivos. De acordo com a *Academy of Nutrition and Dietetics*, maior organização mundial de profissionais de alimentação e nutrição, as bebidas esportivas idealmente devem conter uma concentração de carboidratos entre 6% e 8% e um nível isotônico, permitindo um esvaziamento gástrico mais rápido durante o exercício (RAIZEL et al., 2019).

Concentrações maiores que 8% a 10% (peso/volume) de carboidratos podem resultar em significativo retardo do esvaziamento gástrico e não devem, desta forma, ser adotadas em situações em que as perdas de suor e as consequentes necessidades de fluidos estão aumentadas. Por isso, refrigerantes e sucos de frutas que contêm mais do que 100 g

de carboidratos por litro (acima de 10%), assim como bebidas energéticas, não devem ser utilizados com este fim, pois reduzem a velocidade de reidratação do organismo (BECKER et al., 2016).

A maioria das bebidas esportivas oferece uma mistura de fontes de carboidratos, como sacarose, glicose, frutose e galactose. Em algumas bebidas também é adicionada a maltodextrina, um polímero de glicose que é rapidamente digerido e se comporta de forma idêntica à glicose sendo utilizada preferencialmente em exercícios (ROWLANDS et al., 2015).

Alguns estudos sugerem que bebidas esportivas que oferecem uma mistura de carboidratos em vez de uma única fonte, podem melhorar a absorção intestinal de carboidratos, uma vez que diferentes açúcares são absorvidos por diferentes vias no trato intestinal (OLIVEIRA e BURINI, 2014; RAIZEL et al., 2019). A ingestão de múltiplos monossacarídeos transportáveis (glicose + frutose) durante o exercício prolongado aumenta o esvaziamento gástrico, a absorção de fluido intestinal e a distribuição de fluidos, porque glicose e frutose são absorvidas por diferentes transportadores. Além disso, a ingestão de soluções contendo estes monossacarídeos aumenta a oxidação de carboidratos exógenos e o desempenho de resistência, em relação às soluções de carboidratos simples (O'BRIEN et al., 2013).

3.1.1.2 ELETRÓLITOS

A reposição adequada de líquidos por bebidas esportivas também pode prevenir e / ou tratar outras condições que afetam os atletas, como exaustão pelo calor e câibras musculares, melhorando o desempenho físico (RAIZEL et al., 2019). A sudorese excessiva resulta na perda de minerais, o que pode resultar em câibras musculares associadas ao exercício e hiponatremia durante eventos de resistência de longa duração no calor. Esses requisitos levaram ao desenvolvimento de diferentes produtos com uma grande variedade de eletrólitos adicionados pela indústria de alimentos, como sódio, cloreto e potássio para repor as perdas pelo suor durante exercícios físicos extenuantes (THOMAS, ERDMAN e BURKE, 2016).

É importante considerar que cada país tem seus regulamentos específicos em relação à concentração de eletrólitos de bebidas esportivas isotônicas. No entanto, são recomendadas em geral, soluções isotônicas a levemente hipotônicas em relação ao

plasma, com osmolalidade entre 200 e 330 mOsm / Kg (MARAPANA, CHANDRASEKARA e APONSO, 2017).

O sódio associado ao cloreto está presente predominantemente nos líquidos extracelulares e participam na manutenção da pressão osmótica dos fluidos corporais. A adição de sódio à água aumenta a absorção de fluidos, o que ocorre em maior proporção na presença de carboidratos. Essa adição contribui para melhorar a retenção de água, transmissão nervosa e o equilíbrio ácido-básico do organismo, promovendo a captação intestinal de fluidos e melhorando a hidratação (KREIDER et al., 2010; THOMAS, ERDMAN e BURKE, 2016).

Outro eletrólito de grande importância é o potássio, o íon mais encontrado nos fluidos intracelulares. Assim como o sódio, o potássio está largamente combinado ao cloro e também contribui para a manutenção da pressão osmótica e balanço ácido-básico, além de auxiliar na contração muscular (CHATTERJEE e ABRAHAM, 2019).

Já foi reportado que a ingestão dietética de potássio proveniente de fontes vegetais como frutas e hortaliças é desejável para saúde óssea, pois geralmente se encontra ligado ao citrato, e por meio de sua ação tamponante ajuda proteger os ossos da desmineralização induzida por ácidos (KONG et al., 2017). Neste sentido, a incorporação de sucos de frutas em bebidas para esportistas é relevante, sendo necessário, entretanto, considerar o efeito dos mesmos sobre a osmolalidade da bebida.

Embora o sódio e o potássio sejam os eletrólitos perdidos em grandes quantidades no suor, a adição de magnésio e cálcio em isotônicos também é importante para auxiliar nas contrações musculares e garantir a função muscular ideal (KREIDER et al., 2010; RAIZEL et al., 2019).

3.1.1.3 OUTROS INGREDIENTES

De acordo com Raizel e colaboradores (2019), a geração mais recente e promissora de bebidas esportivas inclui formulações sem ingredientes artificiais, que apresentam adoçantes como estévia e xarope de agave orgânico como fonte de carboidratos, sal marinho natural e outras componentes de origem animal ou vegetal como fonte de eletrólitos. Além disso, estes produtos podem ter outros ingredientes adicionados, como vitaminas, aminoácidos e ervas. Vitaminas do complexo B, vitaminas A, C e E, selênio e extrato de chá verde são comuns em produtos esportivos (KREIDER et al., 2010).

Os estudos mais recentes têm buscado agregar componentes bioativos importantes para a dieta do atleta, como os compostos antioxidantes, que contribuem para evitar o estresse muscular e oxidativo gerado pelo aumento na produção de radicais livres no organismo durante a prática de exercícios físicos extenuantes (SIMIONE et al., 2018; ALI et al., 2021). Diversos estudos mostram a incorporação de diferentes frutas como fontes de vitamina C e de compostos fenólicos em suplementos esportivos, como as cascas e polpas de jabuticaba (FERREIRA et al. 2020; PORFÍRIO et al., 2019) e suco de uva roxa (TOSCANO et al., 2021).

3.1.2 ESTUDOS COM REPOSITORES HIDROELETROLÍTICOS

Numerosos estudos investigaram a capacidade de diferentes bebidas em restaurar as perdas de fluidos em decorrência de exercícios físicos extenuantes. Coletivamente, as evidências disponíveis sugerem que bebidas com perfis nutricionais complexos, como é o caso das formulações à base de leite ou derivados lácteos, são agentes de reidratação mais eficazes do que bebidas com perfis nutricionais mais simples, como as bebidas eletrolíticas tradicionais à base de carboidratos (BERRY, et al., 2020; RUSSO et al., 2019; SEERY e JAKEMAN, 2016). Assim, o uso de soros lácteos como o soro da fabricação da Ricota na elaboração de bebidas isotônicas pode representar uma excelente alternativa para aproveitamento deste subproduto.

No mercado de isotônicos, as marcas Gatorade® da Pepsico, Powerade® da Coca-Cola e a Marathon® da Globalbev são as mais populares no mercado brasileiro. Existe uma grande variedade de sabores disponibilizados para comercialização em embalagens como latas, sachês (versão pó) e garrafas. A marca Gatorade®, por exemplo, apresenta diversos sabores básicos como tangerina, laranja, limão, maracujá, uva e algumas combinações como morango e maracujá, frutas cítricas, morango e kiwi. Dentre seus lançamentos mais recentes, a marca inclui formulações na versão *light* e com reduzido teor de açúcares e uma versão orgânica, sem ingredientes artificiais (MUNDO DAS MARCAS, 2020). Além desses sabores, a Gatorade® possui uma formulação de isotônico com maçã silvestre, fruta muito comum na América do Norte, indicando que a diversidade de sabores desse tipo de bebida tem ajudado a popularizar seu consumo em várias partes do mundo.

A adição de polpa de frutas ou outras fontes vegetais pode melhorar o sabor, aroma, cor e as propriedades funcionais destas bebidas, favorecendo sua aceitação

sensorial e também comercial. Existem diversos estudos sobre a incorporação de produtos naturais em bebidas esportivas isotônicas, conforme é apresentado no Quadro 1, que destaca as principais pesquisas sobre o tema publicadas nos últimos 5 anos.

Quadro 1 - Publicações sobre bebidas isotônicas dos últimos 5 anos

Assunto	Fonte
Isotônicos produzidos com suco de limão e maqui, armazenados a 7 ° C e a 37 ° C durante 56 dias foram avaliados quanto a estabilidade das antocianinas, capacidade antioxidante e qualidade microbiológica frente aos tratamentos térmicos.	Gironés-Vilaplana et al., 2016
Isotônicos a base de soro de Ricota com aroma de tangerina e corante amarelo crepúsculo foram desenvolvidos, submetidos a diferentes condições de pasteurização e analisadas quanto às características físico-químicas, esterilidade comercial e prazo de validade.	Valadão et al., 2016
Bebida isotônica formulada a partir da água de coco rei (<i>Cocos nucifera aurantiaca</i>) e avaliação de sua estabilidade microbiológica durante o armazenamento em condições refrigeradas.	Marapana, Chandrasekara e Aponso, 2017
Nanoemulsões de óleo de buriti foram produzidas, avaliadas e incorporadas em uma bebida isotônica, como alternativa para substituição de corantes artificiais.	Bovi, Petrus e Pinho, 2017
Isotônico produzido com capim-limão, adicionado de extratos de hortelã e pseudocaule de banana e incorporação de xarope de palma como adoçante. A estabilidade microbiológica das bebidas foi monitorada durante o armazenamento em refrigeração e em temperatura ambiente.	Swarnalakshmi et al., 2019
Desenvolvimento de bebidas isotônicas com atributos funcionais, sem adição de corantes e aromas sintéticos, a base de extratos hidroetanólicos concentrados de casca e de polpa de <i>Myrciaria jabuticaba</i> .	Porfírio et al., 2019
Avaliação da estabilidade de um refrigerante isotônico de tangerina com adição de microcápsulas de norbixina como corante natural, durante o armazenamento. A cinética de degradação das bebidas foi analisada quando expostas a luz e ao calor.	Tupuna-Yerovi et al., 2020
Desenvolvimento de corante natural a base de oleorresina de astaxantina e sua aplicação em um isotônico para simular a cor vermelho alaranjado. A capacidade antioxidante e estabilidade do pigmento na bebida foi avaliada durante 3 meses de armazenamento.	Mezquita et al., 2020
Obtenção de pós de mel enriquecidos com extratos vegetais de hortelã, urtiga e beterraba e sua incorporação em um concentrado seco de bebidas isotônicas caseiras, preparadas com mel e outros componentes naturais, obtidas por spray dryer.	Tomczyk, Zagula e Dżugan, 2020
Produção de isotônico a base de permeado de soro de leite, adicionado de extrato fenólico da casca de jabuticaba e avaliação da eficácia de seu consumo no controle dos marcadores de estresse oxidativo e dano muscular em jogadores de futebol.	Ferreira et al., 2020

Produção e avaliação das propriedades físico-químicas e sensoriais de diferentes formulações de bebida isotônica a base de permeado de soro de leite com sabor de limão.	Becker et al., 2021
Elaboração, caracterização e estabilidade de cor de isotônico com permeado da ultrafiltração de soro de leite, adicionado de corante natural de pequi encapsulado. As características físico-químicas, microbiológicas, aceitação sensorial e estabilidade foram avaliadas, durante o armazenamento sob ausência e presença de luz, a 4 ° C e 25 ° C, durante 60 dias.	Ferreira et al., 2021

Como visto, o uso de fontes vegetais em estudos com bebidas isotônicas é marcante na literatura, evidenciando o potencial bioativo, as propriedades nutricionais e estabilidade frente aos tratamentos térmicos aplicados nessas bebidas.

Os estudos mais recentes sobre a utilização de soros lácteos na produção de isotônicos, propõem a utilização de um permeado de soro de leite na formulação da bebida repositora (BECKER et al. 2021; FERREIRA et al., 2020; FERREIRA, et al. 2021;). A utilização do soro oriundo do queijo Ricota na obtenção de isotônico foi proposta por Valadão et al. (2016), conforme Quadro 1. No entanto, são escassos os estudos que envolvem a incorporação de outros ingredientes naturais em isotônicos a base de soro de Ricota, como os sucos de frutas, potencializando seu sabor e valor nutricional.

3.2 SORO DE RICOTA

O soro de queijo Ricota, conhecido também como *scotta*, corresponde à porção líquida remanescente após a fabricação da Ricota. A Ricota é um produto lácteo fresco italiano, obtido pela coagulação das proteínas do soro de leite pela ação combinada de alta temperatura e acidez. A principal matéria-prima para fabricação da Ricota são os soros doces, provenientes da coagulação enzimática de leite de diferentes origens (vaca, ovelha, búfala e cabra) para a produção de queijo (MONTI et al., 2018; ROCHA-MENDONZA et al., 2020).

Apesar de ser um produto com alto valor nutricional e comercial, a Ricota gera esse “segundo” soro durante sua fabricação (*scotta*), o qual ainda é bastante poluente, com valores de demanda química de oxigênio (DQO) de 50 a 70 g/L e demanda bioquímica de oxigênio (DBO) de 30 a 60 g / L devido à alta concentração de lactose (40 a 50 g / L) (CARVALHO et al., 2013; ZOTTA et al., 2020). Isso significa que o soro gerado na produção de Ricota pode representar um risco para o meio ambiente, prejudicando a sobrevivência de espécies aquáticas, caso seja descartado sem nenhum tratamento.

Atualmente, o tratamento do segundo soro de queijo é considerado mais essencial do que o do soro de queijo resultante de um primeiro processamento, pois este último é muitas vezes destinado para produção de Ricota e queijo Cottage, principalmente. Em geral, o soro resultante da produção da Ricota é parcialmente usado na alimentação de suínos ou bovinos, enquanto a maior parte não é aproveitada pelas indústrias de laticínios (ZOTTA et al., 2020). O descarte deste soro, portanto, continua sendo um problema significativo para a indústria de laticínios, uma vez que o tratamento de efluentes gera custos adicionais e pode se tornar muito caro, especialmente para pequenas fábricas de queijo (PIRES et al., 2021).

A Ricota é um produto típico italiano, mas os queijos de soro são fabricados em todo o mundo e, conseqüentemente, os obstáculos técnicos relacionados à recuperação ou descarte desse soro também são um problema global (CAROTA et al., 2017). Deste modo, pesquisas direcionadas à criação de alternativas economicamente viáveis para o aproveitamento de soro de Ricota são necessárias, já que o rendimento de produção da Ricota é geralmente muito baixo (40 a 50 g / L), resultando em pelo menos 94% de soro (VALADÃO et al., 2016).

Apesar do potencial poluidor, o soro de Ricota tem alto valor nutricional, contendo componentes como lactose (3,5% a 4,5%), minerais (0,5% a 1%) e pequenas quantidades de proteínas e peptídeos (0,05% a 0,5%), em concentrações que podem variar em função do tipo de leite e condições de processamento utilizadas (RIBEIRO et al., 2017; MONTI et al., 2018; MENESES et al., 2020).

A composição físico-química do soro de Ricota o torna uma matéria-prima promissora para o desenvolvimento de novos produtos. Além disso, de acordo com Trindade e colaboradores (2019) existe mercado para a utilização desse subproduto no Brasil, uma vez que 27% das 100 indústrias de laticínios consultadas ainda não utilizam o soro na fabricação de outros produtos alimentícios, resultando em destinos menos nobres (sistema de tratamento de efluentes ou ração animal). Assim, o aproveitamento do soro de Ricota pode ser visto como uma solução viável para diminuir o impacto ambiental e reduzir os custos com o tratamento de efluentes nos laticínios.

Estudos direcionados ao aproveitamento de *scotta* no setor alimentício demonstram o seu potencial como substrato para o crescimento de *Rhodotorula glutinis* destinado à produção de carotenoides (RIBEIRO et al., 2017) e obtenção de peptídeos potencialmente bioativos com atividade biológica, a partir de processos enzimáticos (MONARI et al., 2019).

Boumaiza e colaboradores (2018) abordaram novas estratégias para a produção recombinante de proteínas doces por *Lactococcus lactis* cultivada em um meio de crescimento contendo exclusivamente *scotta* (BOUMAIZA et al., 2018).

Meneses et al. (2020) avaliaram a viabilidade da aplicação de diferentes proporções de *scotta* em sorvetes de chocolate e identificaram que o aumento na proporção de soro adicionado às formulações refletiu na redução do conteúdo de proteínas e de gordura dos sorvetes, resultando em produtos com menor valor calórico. Foi constatado também que a alta acidez característica do soro não afetou negativamente as amostras desenvolvidas, que apresentaram boa aceitação sensorial.

Em estudo recente, o soro de Ricota suplementado com gelatina e colágeno hidrolisado foi utilizado como agente encapsulante das bactérias probióticas *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium lactis*, conferindo proteção e mantendo a viabilidade de ambos os microrganismos durante o armazenamento por 30 dias a 25 ° C (RAMA et al., 2021).

Os estudos baseados na utilização do soro de Ricota como matéria-prima para obtenção de produtos alimentícios propõem o seu aproveitamento principalmente na fabricação de bebidas lácteas fermentadas devido ao conteúdo de lactose no soro, o que favorece o processo de fermentação láctea (SCHLABITZ et al., 2015; MARAGKOUDAKIS et al., 2016; ZOTTA et al., 2020). Por outro lado, poucos estudos ressaltaram a utilização desse soro na produção de bebidas direcionadas para indivíduos praticantes de atividades físicas como os isotônicos.

Evidências recentes sugerem que o consumo de bebidas contendo uma variedade de nutrientes, como leite ou suplementos à base de laticínios, pode promover maior retenção de fluidos em comparação com a bebida eletrolítica tradicional à base de carboidratos (BERRY, et al., 2020; RUSSO et al., 2019; SEERY e JAKEMAN, 2016).

Nesse sentido, algumas pesquisas relataram o uso de permeado de soro de leite na formulação de bebidas esportivas. Becker e colaboradores (2021) reportaram as propriedades físico-químicas e a boa aceitação sensorial de bebidas isotônicas formuladas com permeado da nanofiltração de soro de leite oriundo da produção de queijo Muçarela com sabor de limão.

Ferreira et al. (2020) avaliaram em estudo piloto, os efeitos do consumo de uma bebida hidroeletrólítica a base de permeado da ultrafiltração de soro de leite com extrato fenólico de casca de jabuticaba no dano muscular e oxidativo em jogadores de futebol. Foi reportado que a administração da bebida pode proteger as células dos danos causados

pelo estresse oxidativo e impedir a ocorrência de desidratação e distúrbios hidroeletrolíticos, se consumida em quantidades adequadas durante exercícios físicos intensos.

Abella et al. (2016) também reportaram a aplicação de soro de leite da fabricação de queijo Muçarela após sua fermentação com *Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus*, em uma bebida esportiva com aroma artificial de laranja e diferentes concentrações de estabilizantes. As bebidas apresentaram boa aceitação sensorial em relação a uma marca comercial conhecida, especialmente as formulações com maior quantidade de estabilizante ($> 0,125\%$), as quais exibiram características de bebidas hipertônicas. Entretanto, poucos estudos demonstram a aplicação do “segundo soro de leite” oriundo da fabricação de queijos como a Ricota em suplementos hidroeletrolíticos.

Já foi demonstrado que os dois processos consecutivos de fabricação de queijos, dos quais se origina o soro de Ricota, afetam profundamente sua composição. Embora semelhante aos soros de leite oriundos do processamento de outros queijos, principalmente pelo teor de lactose que representa a maior parte da matéria seca, o soro de Ricota consiste em um produto com menor teor de gordura e proteínas e maior teor de sais e ácidos orgânicos devido à adição de ácido e sal e às temperaturas em que é exposto durante o processo de fabricação (MONTI et al., 2018; RAHO et al., 2020). Portanto, o soro de Ricota é uma matéria-prima promissora para uso em formulações de bebidas esportivas devido ao baixo valor calórico e à presença de minerais que podem auxiliar na reidratação após a atividade física.

Até o presente momento, a utilização de soro de Ricota na elaboração de bebidas isotônicas foi proposta apenas por Valadão et al. (2016). Neste estudo, as bebidas foram produzidas com adição de aromas, corantes sintéticos, sacarose e sais e submetidas a métodos de conservação combinados (acidificação, pasteurização e envase asséptico), os quais garantiram a estabilidade do produto formulado durante o período de 10 dias de armazenamento a 25°C.

Neste contexto e considerando o aumento no número de praticantes de atividades físicas nos últimos anos (RAIZEL et al., 2019), a fabricação de novas formulações de repositores a base de soro de Ricota com adição de frutas como flavorizantes naturais, a fim de atender as necessidades desse público específico, pode ser vista como uma alternativa promissora, economicamente viável e ao mesmo tempo sustentável.

3.3 MARACUJÁ (*Passiflora* spp.)

O gênero *Passiflora* L. (Passifloraceae) é composto por mais de 630 espécies, sendo aproximadamente 150 originárias do Brasil, um dos principais centros de diversidade genética (BERNACCI et al., 2015; PEREIRA et al., 2019). Muitas dessas espécies são economicamente importantes devido as suas propriedades ornamentais e farmacológicas nas indústrias de cosméticos e alimentos (CORRÊA et al., 2016).

Além das espécies mais conhecidas e comercializadas, como *Passiflora edulis* e *Passiflora alata*, outras espécies como *P. setacea*, *P. nitida*, *P. cincinnata* e híbridos interespecíficos tem grande potencial de comercialização no Brasil e com os avanços das ações de pesquisa e desenvolvimento, novas cultivares têm sido desenvolvidas.

O maracujá possui uma produção em grande escala nas mais diversas regiões do Brasil, favorecendo o aumento do consumo por todos os brasileiros, seja *in natura*, ou na forma processada, podendo ser utilizado tanto no comércio interno quanto para a exportação (ROCHA et al., 2020).

O Brasil está entre os principais produtores internacionais de maracujá, com produção de 593.429 ton registradas em 2019 e produtividade média de 14,3 ton/ha/ano (IBGE, 2021). *Passiflora edulis* Sims (maracujá-azedo ou amarelo) é a espécie com maior expressão comercial no Brasil, sendo encontrada em mais de 90% dos pomares brasileiros (FALEIRO et al., 2019), e no mercado internacional seus frutos são os mais utilizados no processamento e consumo *in natura* (OCAMPO, ARIAS e URREA, 2016). Entretanto, essa espécie tem se mostrado altamente suscetível a várias doenças, incluindo bacteriose, fusariose e infecções virais, que ameaçam a produtividade das culturas (PEREIRA et al., 2019).

Nesse sentido, vários estudos buscaram melhorar geneticamente esses frutos através de hibridações (BERNARDES et al., 2020; FALEIRO et al., 2019; MIRANDA et al. 2018). Esses esforços envolveram o uso de espécies selvagens para gerar novas cultivares que são geneticamente resistentes a várias doenças, o que pode influenciar a produtividade e as características de qualidade dos frutos (COELHO et al., 2016).

3.3.1 *Passiflora cincinnata* Mast

Passiflora cincinnata Mast. é uma espécie não comercial, de ocorrência espontânea no semiárido brasileiro, seus frutos são popularmente conhecidos como maracujá-mochila, maracujá-do-mato, maracujá-cincinnata, maracujá-da-Caatinga,

dentre outras denominações. É descrita como uma espécie nativa da Caatinga, liana glabra ou levemente pilosa, de caule cilíndrico, cujas flores são axilares, de coloração azul-rosadas ou violeta e frutos globosos ou ovóides (SIEBRA et al., 2018).

Os frutos do maracujazeiro-do-mato podem ser consumidos *in natura* ou utilizados como matéria-prima para sucos, doces, geleias, dentre outros. A comercialização ainda é feita em pequena escala, geralmente em feiras livres, ocorrendo em sua maior parte nos estados de Pernambuco e Bahia (ALMEIDA, 2018).

Nos últimos anos, estudos com espécies silvestres de *Passiflora* apresentaram resultados relevantes com a *Passiflora cincinnata* Mast. Encontrada principalmente na região Nordeste do Brasil, essa espécie tem sido empregada como fonte de genes em programas de melhoramento por apresentar maior tolerância ao estresse hídrico (NETO et al., 2017) e resistência a doenças (COELHO et al., 2016). Outros estudos têm evidenciado sua ação anti-inflamatória (LAVOR et al. 2018), antibiótica (SIEBRA et al., 2018), anti-hipertensiva e propriedades sedativas (SOUZA et al., 2014).

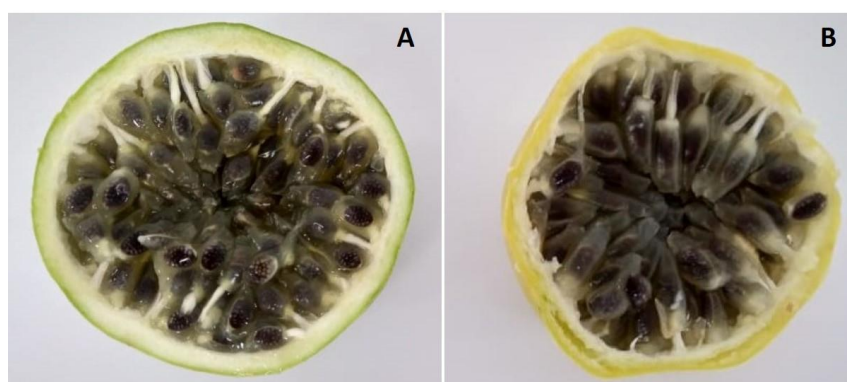
A cultura do maracujá-da-Caatinga é resistente a longos períodos de estiagem, não necessita da utilização de agrotóxicos e demanda menos custos de produção em relação à cultura do maracujá amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*.). Em função disso, o mercado paga preços bem acessíveis pelo maracujá-da-Caatinga, principalmente quando se considera que não é preciso muito investimento para sua produção (ARAÚJO et al., 2016). O produtor tem facilidade para cultivar a planta, obtendo colheita já no primeiro ano após o plantio e mais alguns anos com boa produtividade (ALMEIDA, 2018; SANTOS, 2018), o que favorece o processamento e aplicação industrial de seus frutos.

Santos e colaboradores (2021) reportaram que os frutos de *Passiflora cincinnata* Mast. possuem alto teor de minerais totais (0,81%) e vitamina C (176 mg / L), além de exibirem maior conteúdo de compostos fenólicos como isoquercetina (39,1 mg / L), hesperidina (4,58 mg / L) e epigallocatequina galato (3,06 mg / L) em relação ao maracujá amarelo (*Passiflora edulis* Sims), os quais contribuem com a atividade antioxidante significativa destes frutos.

Considerando estas características, a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa lançou em 2016, a primeira variedade do maracujá-da-Caatinga disponível para o cultivo comercial, denominada BRS Sertão Forte (Figura 1). O fruto é o resultado de mais de uma década de pesquisa realizada pela Embrapa Semiárido (Petrópolis-PE) em parceria com a Embrapa Cerrados (Planaltina-DF) e consiste em uma versão melhorada geneticamente, obtida a partir da seleção de diversos acessos de

maracujazeiros silvestres da espécie *Passiflora cincinnata*, coletados em diferentes áreas da Caatinga no Brasil (ARAÚJO et al., 2016).

O maracujá ‘BRS Sertão Forte’ apresenta maior rendimento de campo e produtividade de polpa em comparação com suas plantas nativas e tem coloração de casca verde claro no estágio intermediário e amarelo claro quando maduros. O peso desses frutos varia de 109 g a 212 g, com média equivalente ao peso do maracujá amarelo (166 g), o rendimento da polpa extraída manualmente com peneira fica em torno de 35% e quando extraída em despulpador rotativo chega a 50%, ficando próximo ao rendimento médio do maracujá amarelo (53%). A polpa apresenta cor amarela clara e o teor de sólidos solúveis pode variar de 8 a 13%, enquanto no maracujá amarelo pode chegar a 18% (ARAÚJO et al., 2016).



Fonte: Autoria própria.

Figura 1 - Maracujá-da-caatinga cv. BRS Sertão Forte no estágio de maturação intermediário (A) e maduro (B).

Já é conhecido que a parte comestível dos frutos de *Passiflora* spp. contém geralmente quantidades de nutrientes e fitoquímicos relevantes como ácidos orgânicos, açúcares, polifenóis e minerais (CORRÊA et al. 2016; GADIOLI et al., 2018). E de acordo com Teixeira e colaboradores (2019), a flora brasileira é muito rica em frutas da espécie *Passiflora*, mas apenas uma fração desse potencial é conhecida e utilizada. Embora os frutos da cultivar BRS Sertão Forte sejam até então pouco explorados comercialmente, eles apresentam potencial de aplicação na indústria de alimentos por exibirem um sabor exótico agradável e aroma diferenciado e intenso, além de sua composição de minerais e compostos bioativos (D’ABADIA et al., 2019; SANTOS et al., 2021).

Portanto, o desenvolvimento de novos produtos utilizando o maracujá ‘BRS Sertão Forte’ é essencial para promover sua valorização comercial, gerando perspectivas de agronegócio para os pequenos produtores da região nordeste. Ademais, os frutos da nova cultivar representam uma alternativa para o mercado de frutas exóticas destinadas ao consumo *in natura* ou para o seu processamento em produtos como sucos, geleias, polpas de frutas, ou até mesmo no mercado de suplementos para atletas, devido a composição de minerais e compostos antioxidantes destes frutos, que podem ajudar na reposição de eletrólitos e contribuir para evitar o dano muscular e oxidativo que o exercício físico intenso pode gerar (ALI et al., 2021).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 LOCAL DE EXECUÇÃO E DELINEAMENTO DO ESTUDO

A pesquisa foi conduzida nos laboratórios de Processamento de Alimentos, de Análises Físico-químicas e de Microbiologia do Centro de Tecnologia e Desenvolvimento Regional – CTDR / UFPB, bem como nos laboratórios de Fisiologia Vegetal, Fisiologia Pós-colheita, Processamento de Frutas e de Cromatografia da Embrapa Semiárido.

As etapas de desenvolvimento do projeto incluíram as atividades que são descritas resumidamente na Figura 2.

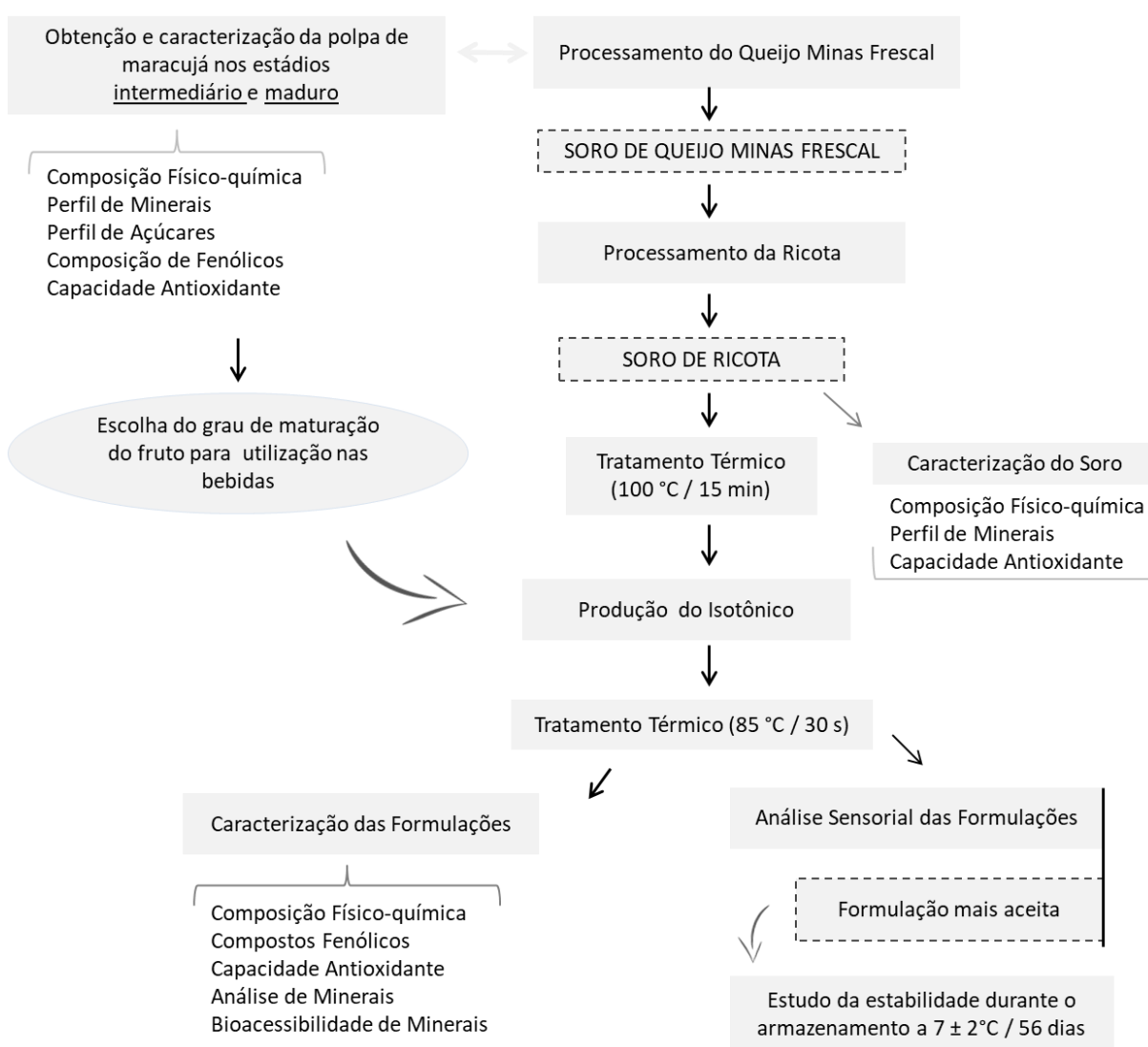


Figura 2 – Delineamento do Estudo

4.2 OBTENÇÃO DA POLPA DE MARACUJÁ-DA-CAATINGA

A polpa de maracujá-da-Caatinga foi obtida a partir de frutos da variedade melhorada geneticamente, a cv. BRS Sertão Forte, disponibilizada pela Embrapa Semiárido. O acesso ao patrimônio genético relativo à utilização destes frutos no presente estudo foi previamente cadastrado no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen) conforme cadastro nº A241C51.

Foram utilizados frutos em dois estádios de maturação para obtenção da polpa: 1) estágio intermediário – obtido imediatamente após a colheita, no ponto de maturidade fisiológica, correspondendo a frutos com cor de casca 100 % verde e apresentando deformação reversível quando pressionados manualmente; 2) estágio maduro – obtido após conclusão do amadurecimento (conclusão da fase climatérica), correspondendo a frutos com casca 100% amarela e apresentando deformação irreversível ao pressionamento manual.

Os frutos foram recebidos no laboratório de Processamento de Frutas da Embrapa Semiárido e submetidos ao processo de lavagem em água corrente. Em seguida, os frutos com maturação intermediária foram despulpados em despulpador rotativa (Macanuda® DMJI-05, SC, BRASIL) e suas polpas congeladas a -18 ± 2 °C. Metade destes frutos foram mantidos intactos sob temperatura ambiente de laboratório (± 25 °C), até alcançarem o estágio maduro, quando os procedimentos de despolpa e congelamento foram concluídos. As polpas de cada estágio de maturação foram armazenadas separadamente em caixas térmicas e transportadas para o laboratório de Análises Físico-químicas do CTDR, onde foram analisadas.

A avaliação dos frutos em diferentes estádios de maturação foi realizada com a finalidade de investigar qual o melhor grau de maturação para a formulação da bebida, uma vez que pode haver variações quanto ao potencial antioxidante e ao sabor final da bebida em função do estágio de maturidade das polpas.

4.3 OBTENÇÃO DO SORO DE RICOTA

O soro de Ricota foi obtido a partir do processamento da Ricota, a qual foi produzida com o soro resultante da fabricação do queijo minas frescal. Leite bovino integral pasteurizado (Betânia®, Fortaleza, CE) foi utilizado na produção dos queijos.

Queijo minas frescal foi produzido em laboratório segundo os procedimentos descritos por Dantas et al. (2016). Para isso, cloreto de cálcio ($0,4 \text{ mL L}^{-1}$, Rica Nata, MG, Brasil) e coagulante ($0,8 \text{ mL L}^{-1}$, HA-LA®, CHR Hansen) foram adicionados ao leite pasteurizado e mantidos em repouso por 35 min. a $37 \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$ para coagulação. Em seguida, o soro foi retirado e reservado para o experimento. Esse processamento inicial foi necessário para garantir a obtenção de soro de leite com composição padronizada durante o experimento de produção da Ricota.

O processamento da Ricota seguiu os procedimentos descritos por Valadão (2016). Inicialmente, a acidez do soro de queijo minas frescal foi corrigida para $11 \text{ }^{\circ}\text{D}$ com bicarbonato de sódio (Kitano, São Bernardo do Campo – SP), para evitar a desnaturação das proteínas, antes da adição do ácido láctico. Em seguida, foram realizadas as seguintes etapas: aquecimento lento do soro de leite a $85 \text{ }^{\circ}\text{C}$; adição de solução de ácido láctico $85\% \text{ v / v}$ ($1,5 \text{ mL L}^{-1}$, Ricanata, MG, Brasil); aquecimento a $90 \text{ }^{\circ}\text{C}$; resfriamento a $30 \text{ }^{\circ}\text{C}$ e repouso para separação das proteínas do soro de leite (Ricota).

O soro de Ricota resultante foi submetido a esterilização por autoclave com vapor fluente a $100 \text{ }^{\circ}\text{C}$ por 15 min. Em seguida todo o lote de soro foi armazenado em freezer horizontal a $-18 \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$, na ausência de luz, a fim de preservar sua qualidade durante o período dos experimentos.

4.4 COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DAS MATÉRIAS-PRIMAS

4.4.1 ANÁLISES REALIZADAS NO SORO DE RICOTA

- *Potencial Hidrogeniônico*: Determinado por leitura direta em um medidor de pH digital (MPA-210 Tecnocon, SP, Brasil);
- *Acidez Titulável*: Analisada pelo método titulométrico n° 920.124, utilizando solução de hidróxido de sódio $0,1\text{N}$ (AOAC, 2016);
- *Sólidos Solúveis*: Analisados em um refratômetro digital (DR 500 Nova Instrumentos, SP, Brasil) e expressos em $^{\circ}\text{Brix}$;
- *Atividade de água*: Determinada a $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$ em medidor de atividade de água (AquaLab Dew Point 4TEV, Washington, USA);
- *Proteína*: Analisada a partir da quantificação de nitrogênio por meio da digestão da amostra, segundo o método de Micro-Kjedahl, multiplicando-se a porcentagem de nitrogênio obtida pelo fator 6,38% (AOAC, 2016);

- *Glícidos Redutores em Lactose*: Analisados por titulometria (Fehling), segundo método do Ministério de Agricultura (BRASIL, 2006).
- *Lipídeos*: Determinados por meio de extração a frio, com clorofórmio, metanol e água, segundo metodologia de Bligh e Dyer (1959).
- *Extrato Seco Total*: Determinado por meio da secagem das amostras a 105 °C até peso constante (AOAC, 2016);
- *Minerais*: Analisados a partir da digestão das amostras com solução nítrico-perclórica (5:1, v / v) e repouso por 4 horas, seguindo o método descrito por Tedesco et al. (1995). A leitura dos extratos foi realizada em fotômetro de emissão de chamas (Micronal B462) para determinação de Na e K, e em espectrômetro de absorção atômica (PerkinElmer PinAAcle 900H) para determinação de Ca, Mg, Cu, Fe, Zn e Mn, utilizando os respectivos padrões analíticos para construção das curvas de calibração.
- *Osmolalidade*: Analisada por leitura direta em osmômetro de pressão de vapor (Wescor Inc, Vapro® 5600)
- *Cor*: Determinada por meio dos sistemas CIELab e CIELCh em colorímetro digital modelo CR-400 (Konica Minolta, Japão), sendo observadas as coordenadas: luminosidade (L*), vermelho / verde (a*), amarelo / azul (b*) e parâmetros psicofísicos, Chroma (C*) e o ângulo de matiz (h°).
- *Capacidade Antioxidante*

A atividade antioxidante foi determinada por três métodos *in vitro* a seguir descritos. Em todos os ensaios as leituras espectrofotométricas foram obtidas em leitor de placas FLUOstar Omega (BMG LABTECH, Ortenberg, Germany), o padrão de Trolox foi usado para construção da curva padrão, as amostras foram centrifugadas e utilizados os sobrenadantes e os resultados foram expressos em μM de Trolox por 100g de polpa.

A capacidade dos antioxidantes em desativar radicais DPPH das amostras foi determinada segundo metodologia de Brad-Williams et al. (1995), com modificações baseadas em Rufino et al. (2009). Foi preparada uma solução metanólica de DPPH (80 μM). Posteriormente, alíquotas de 20 μL das amostras foram misturadas com 180 μL da solução de DPPH em uma microplaca de 96 poços, e após 30 min, a absorvância foi medida a 544 nm.

A capacidade de redução do ferro foi determinada pelo método FRAP (ferric reducing antioxidant power), segundo o protocolo de Rufino et al. (2006). Foram

misturados na placa uma alíquota de 20 µL da amostra com 180 µL de solução de FRAP [tampão acetato 0,3 mol L⁻¹ (pH 3,6), solução de TPTZ 10 mmol L⁻¹ em HCl 40 mmol L⁻¹ e FeCl₃ 20 mM] e a absorbância foi medida a 620 nm.

A Capacidade de Absorção do Radical Oxigênio (ORAC) foi medida de acordo com Zulueta *et al.* (2009). Alíquotas de 20 µL das amostras foram misturadas com 20 µL de fluoresceína e 60 µL de Solução de AAPH [2,20'-azobis-(2-metilpropanoamidina)] na microplaca. A microplaca foi lida a 765 nm e a fluorescência registrada durante 100 min.

4.4.2 ANÁLISES REALIZADAS NA POLPA

As polpas de maracujá foram analisadas quanto aos mesmos parâmetros descritos para as amostras de soro (item 4.4.1), incluindo as análises descritas a seguir:

– Açúcares

Os açúcares redutores e não redutores foram determinados pelo método de Lane Eynon (LANE E EYNON, 1934) e o teor de glicose e frutose do maracujá foram analisados individualmente por HPLC (Waters 2695 Alliance, Milford, MA), acoplado a um detector de índice de refração (HPLC-RI). As amostras foram diluídas em água ultrapura 1:10 (v / v), filtradas em membrana de 0,45 µm e injetadas no HPLC (10µL). Para a separação dos analitos, foi empregada uma coluna Rezex RHM-monosaccharide H⁺ (300 x 7,8 mm, Phenomenex, Torrance, CA, USA) e uma pré-coluna Carbo H (4,0 x 3,0 mm, Phenomenex). Como fase móvel, foi utilizada água ultrapura com fluxo isocrático de 0,5 mL.min⁻¹ e temperatura do forno de 40°C (CÔRREA *et al.* 2013). O sistema usado para aquisição dos dados foi o software Empower 2.

– Ácido Ascórbico

O teor de ácido ascórbico foi determinado pelo método titulométrico de Tillmans n° 967.21, que se baseia na redução do corante 2,6-diclorofenol indofenol por uma solução de ácido ascórbico (AOAC, 2016).

– Carotenoides

Os carotenoides foram extraídos e quantificados de acordo com Nagata e Yamashita (1992). Os extratos de amostra foram preparados na ausência de luz, com 2 g de polpa e 20 mL da solução de extração (acetona: hexano, 2:3 v / v), homogeneizados e centrifugados a 8000 rpm por 1 min. As leituras espectrofotométricas do sobrenadante foram obtidas em 453, 505, 645 e 663 nm. A concentração de carotenóides foi calculada

a partir da equação: $[\beta\text{-caroteno} = (0,216_{abs663} - 1,22_{abs645} - 0,304_{abs505} + 0,452_{abs453}) \times 1000]$, em que *abs* corresponde às absorbâncias das leituras em cada comprimento de onda e os resultados foram expressos como μg de $\beta\text{-caroteno}$ / 100 g de polpa.

– *Flavonoides Totais*

O conteúdo de flavonoides totais foi determinado de acordo com o método de Lees e Francis (1972). Os extratos foram preparados com 2 ml da bebida e 25 ml de solvente etanol: HCl 1,5 N (85:15 v / v), deixados em maceração na ausência de luz por 16 horas e depois filtrados com papel de filtro qualitativo (0,16 mm). A absorbância dos extratos foi medida a 374 nm e os flavonoides totais quantificados pela seguinte equação: $[\text{Absorbância } 374 \text{ nm} (100 \times \text{volume do extrato (mL)} / \text{amostra (g)} / 76,6)]$. Os resultados foram expressos como mg equivalente de quercetina (QE) por 100g de polpa.

– *Polifenóis Totais*

Os compostos fenólicos totais foram analisados pelo método colorimétrico com o reagente Folin-Ciocalteu, de acordo com Singleton e Rossi (1965). As amostras foram misturadas com o reagente de Folin-Ciocalteu e adicionadas de carbonato de sódio a 20%. Posteriormente, a absorbância da solução foi medida a 765 nm em espectrofotômetro Cary 60 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, EUA). O padrão de ácido gálico foi usado para construção da curva padrão e os resultados foram expressos em mg equivalente de ácido gálico (GAE) / 100 g de polpa.

– *Fenólicos Individuais*

O perfil de fenólicos foi determinado por HPLC (Waters 2695 Alliance, Milford, MA) utilizando o detector de arranjo de diodos (HPLC - DAD), segundo o método descrito por Natividade et al. (2013). Alíquotas de 10 μL de amostras foram injetadas em um sistema com pré-coluna Gemini-NX C18 (4,0 mm X 3,0 mm, Phenomenex, Torrance, CA, USA) e coluna Gemini-NX C18 (150 mm X 4,60 mm X 3 μm , Phenomenex) para separação dos compostos. A fase móvel utilizada foi constituída de uma solução a 0,85% de ácido orto-fosfórico (fase A) e acetonitrila grau HPLC (fase B), totalizando 60 minutos de corrida. A temperatura do forno foi mantida a 40°C e o fluxo a 0,5 mL min⁻¹. Para identificação e quantificação dos compostos, foram empregados os comprimentos de onda 280, 320 e 360 nm no DAD e comparados com as curvas de calibração dos padrões de kaempferol, isoquercetina, isorhamnetina, miricetina e rutina (Sigma-Aldrich MO, USA), (-)-galato de epicatequina, (-)-galato de epigallocatequina, piceatanol, cis-

resveratrol (Extrasynthese Geney, France) e os ácidos cafeico, caftárico, clorogênico, ρ -cumárico, ferrúlico e gálico (Chem Service, West Chester, USA).

A aquisição e processamento de dados foram realizados usando o software Waters Empower™ 2 (Aliance, Milford, EUA).

4.5 DESENVOLVIMENTO DAS FORMULAÇÕES DE ISOTÔNICO

Diferentes proporções de soro de Ricota, polpa de maracujá e sacarose (União®, SP, Brasil) foram utilizadas na elaboração do isotônico. Alguns testes preliminares foram realizados para verificar a osmolalidade, teor de sódio e açúcares totais das formulações. A osmolalidade deveria estar entre 270 e 330 mOsm / L; sódio entre 460 mg / L e 1150 mg / L; e carboidratos entre 6 e 8%, conforme recomendações legais brasileiras para este tipo de produto (BRASIL, 2018.a). Com base nesses resultados e considerando a aceitação sensorial previamente verificada, três formulações de bebidas isotônicas foram escolhidas para conduzir o estudo, conforme mostrado na Tabela 3

Tabela 1 – Formulações de Bebida Isotônica

	<i>Formulações</i>		
	F1	F2	F3
Soro de ricota (%)	50	50	30
Água deionizada (%)	42	38,5	53
Polpa de maracujá (%)	5	8,5	12
Sacarose (%)	3	3	5

As bebidas foram formuladas em ambiente estéril em capela de fluxo laminar e, em seguida, filtradas em peneira de náilon para leite (P-32, Etel, RS, Brasil), pasteurizadas a 85 ° C / 30s e embalados em garrafas de polietileno tereftalato (PET) previamente higienizadas. Todas as formulações desenvolvidas foram armazenadas em temperatura de refrigeração (7 ± 2 ° C).

4.6 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS E MICROBIOLÓGICAS

As formulações de bebida isotônica foram analisadas quanto aos mesmos parâmetros físico-químicos descritos para o soro de Ricota e maracujá (item 4.4).

A estabilidade microbiológica foi avaliada a partir das contagens de microrganismos mesófilos aeróbios totais, número mais provável de coliformes a 35°C e

a 45°C e contagens de bolores e leveduras, antes da avaliação sensorial e durante o armazenamento das bebidas, de acordo com os protocolos da APHA para exame microbiológico de alimentos (2015). Deste modo, a população de mesófilos foi determinada pela técnica *pour-plate* usando Ágar para contagem padrão em placas (PCA - Plate Count Agar) e as amostras foram incubadas a 36 ° C (± 1 ° C) por 48 h. Coliformes totais (coliformes a 35 ° C) e coliformes termotolerantes (coliformes a 45 ° C) foram enumerados por inoculação em caldo Lauril Sulfato Triptose – LST para o teste presuntivo, seguido de testes confirmativos em caldo Verde Brilhante – VB e caldo *Escherichia coli*, respectivamente. As contagens de leveduras e bolores foram realizadas pela técnica de semeadura em placa usando o meio de cultura Ágar Batata Dextrose acidificado, incubado a 25 ° C (± 1 ° C) por 5 dias.

Os resultados foram analisados com base nas exigências da Instrução Normativa nº 16 de 2005 que estipula um limite máximo de 10^5 UFC / mL de bactérias mesófilas aeróbias para bebida láctea esterilizada (BRASIL, 2005) e da Instrução Normativa nº 49 de 2018 para sucos e polpa de fruta destinados ao consumo humano, que estabelece o limite de 1 NMP / mL de coliformes e 5×10^3 UFC / mL de bolores e leveduras (BRASIL, 2018b), em virtude de não haver legislação específica.

4.7 DIGESTÃO GASTROINTESTINAL *IN VITRO* DE MINERAIS

A bioacessibilidade foi avaliada pelo método de solubilidade, aplicado ao teor de minerais das frações obtidas após a digestão gastrointestinal simulada. Inicialmente, foi determinada a quantidade total dos minerais K, Na, Ca e Mg das bebidas, de acordo com o método descrito por Tedesco et al. (1995).

O sistema de digestão gastrointestinal foi realizado de acordo com Silva, et al. (2017). Para o ensaio de digestão *in vitro*, 1 mL da bebida isotônica foi homogeneizado em 96 mL de água ultrapura e o pH ajustado para 2,0 com HCl 6 M. Na etapa de digestão gástrica, 3 mL da solução de pepsina (1,6 g em 10 mL de HCl 0,1 M) foram adicionados às amostras e então incubados por 2 h a 37 ° C em um agitador orbital. Esta digestão foi interrompida em banho de gelo por 10 min.

A simulação da digestão entérica procedeu com o ajuste do pH das amostras para 5, utilizando NaHCO_3 1,0 M. Em seguida, uma solução contendo sal biliar e pancreatina foram adicionadas e a mistura foi incubada a 37 ° C por 2 h. A digestão foi interrompida com banho de gelo e, em seguida, o pH das amostras foi corrigido para 7,2. As amostras

digeridas foram centrifugadas a 3500g a 4 ° C por 30 min. A fração solúvel (bioacessível) foi analisada para determinação dos minerais.

Os resultados foram expressos como porcentagem como segue Equação 1: [Bioacessibilidade (%) = (quantidade de mineral após digestão / quantidade de mineral antes da digestão) × 100].

4.8 ANÁLISE SENSORIAL

Inicialmente o projeto foi submetido e aprovado em 2018 pelo Comitê de Ética em Pesquisa - Centro de Ciências Médicas (CAAE n ° 89482218.0.0000.518, n° do parecer de aprovação: 2.843.518) e somente após a confirmação da qualidade microbiológica das formulações prontas, os testes sensoriais foram realizados.

Os testes sensoriais foram realizados no espaço de atletismo da Universidade Federal da Paraíba, com 50 voluntários selecionados, por se tratar de um grupo específico de consumidores. Os participantes tinham entre 18 e 47 anos de idade, 68% do sexo masculino e 32% feminino e foram pré-recrutados entre atletas de diferentes modalidades esportivas que praticavam atividades físicas várias vezes por semana e se autodeclararam consumidores de bebidas isotônicas. O teste afetivo de aceitação com uma escala hedônica de nove pontos, variando de "9-gostei extremamente" a "1-não gostei extremamente", foi usado para avaliar os atributos de aparência, aroma, sabor e aceitabilidade geral. Na mesma sessão, o teste de intenção de compra foi aplicado usando uma escala categórica de cinco pontos, variando entre "5 = certamente compraria" e "1 = certamente não compraria", conforme proposto por Meilgaard et al. (2006). Para cada participante, 50 mL das bebidas a 7 ± 2 ° C foram servidos separadamente em copos plásticos transparentes, codificados com três dígitos aleatórios e em ordem balanceada de apresentação, conforme sugerido por Macfie et al. (1989). Água à temperatura ambiente foi servida entre as amostras para evitar a interferência do sabor residual.

Os provadores foram orientados quanto ao preenchimento da ficha de avaliação sensorial (APÊNDICE 1) e assinatura do Termo de Consentimento Livre Esclarecido, autorizando a sua participação no teste e divulgação dos resultados (APÊNDICE 2).

4.9 ESTABILIDADE DAS BEBIDAS DURANTE O ARMAZENAMENTO

O estudo da estabilidade microbiológica e físico-química das bebidas isotônicas foi realizado com a formulação que apresentou maior aceitação sensorial. Um novo lote

desta amostra foi produzido e mantido refrigerado a 7 ± 2 ° C por 56 dias. As amostras foram coletadas a cada 14 dias e monitoradas por contagem de microrganismos aeróbios mesófilos, coliformes totais e termotolerantes, bolores e leveduras e pelas análises de osmolalidade, acidez e pH, seguindo as metodologias descritas no item 4.4.

4.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos no teste de aceitação sensorial, análises físico-químicas e microbiológicas, assim como os resultados obtidos durante o estudo da estabilidade microbiológica e físico-química das bebidas foram submetidos a Análise de Variância (ANOVA), a fim de verificar se houve diferença significativa entre as amostras, com aplicação do teste T de Student e teste de Tukey a 5% de significância, empregando o software *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS, 13.0).

REFERÊNCIAS

ABELLA, M., LEANO, M. L., MALIG, J., MARTIN, G., CRUZ, C. D., & DE LEON, A. Formulation of a Sports Drink from Fermented Whey. **CLSU International Journal of Science & Technology**. v. 1, n. 1, p. 1-10. 2016.
<https://doi.org/10.22137/ijst.2016.v1n1.01>

ABIR. Associação Brasileira das Indústrias de Refrigerantes e de Bebidas não Alcoólicas: Produção e consumo de isotônicos no Brasil. Disponível em: <https://abir.org.br/o-setor/dados/isotonicos/>. Acesso em 11 de agosto de 2021.

ALI, A., MEHTA, S., STARCK, C., WONG, M., O'BRIEN, W. J., HASWELL, C., ... & AHMED NASEF, N. (2021). Effect of SunGold Kiwifruit and Vitamin C Consumption on Ameliorating Exercise-Induced Stress Response in Women. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 65, n. 10, p. 2001219.
<https://doi.org/10.1002/mnfr.202001219>

ALMEIDA, Larissa Emanuelle da Silva. **Caracterização citogenética e molecular de acessos de maracujá da caatinga (*Passiflora cincinnata* Mast.)**. 59 f. Dissertação (Mestrado Acadêmico em Recursos Genéticos Vegetais) - Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, 2018.

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis of AOAC International**. 20th Ed. Revision. Washington, DC. ISBN n. 0-935584-87-0. 3172p. 2016.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION – APHA (2015). **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. Salfinger Y, Tortorello L (Ed.). <https://doi.org/10.2105/MBEF.0222.001>

ARAÚJO, F. P.; MELO, N. F.; FALEIRO, F. G. 2016. **Produção de mudas do maracujazeiro silvestre: *Passiflora cincinnata* Mast. BRS SERTÃO FORTE (BRS SF)**. Folders para publicação – Embrapa Semiárido, Petrolina PE Brasil. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1046332/producao-de-mudas-do-maracujazeiro-silvestre-passiflora-cincinnata-mast-brs-sertao-forte-brs-sf>. Acesso em 28 de janeiro de 2020.

BECKER, A. F.; REBELATTO, E.; SABADIN, K.; BECKER, J.; STEFFENS, J.; BAGATINI, L.; ... RIGO, E. Evaluation of whey permeate obtained through nanofiltration for the formulation sports drinks. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 2, p. 18753–18769. 2021. <https://doi.org/10.34117/bjdv7n2-493>.

BECKER, L. K.; PEREIRA, A. N.; PENA, G. E.; OLIVEIRA, E. C.; SILVA, M. E. Efeitos da suplementação nutricional sobre a composição corporal e o desempenho de atletas: uma revisão. **RBNE - Revista Brasileira de Nutrição Esportiva**, v. 10, n. 55, p. 93-111. ISSN 1981-9927. 2016.

BERNACCI, L. C.; CERVI, A. C.; MILWARD-DE-AZEVEDO, M. A.; NUNES, T. S.; IMIG, D. C.; MEZZONATO, A. C. 2015. **Passifloraceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB182.BFG>. Growing

knowledge: an overview of Seed Plant diversity in Brazil. **Rodriguésia**, v. 66, n. 40, p. 1085-1113. 2015. <https://doi.org/10.1590/2175-7860201566411>.

BERNARDES, P. M., NICOLI, C. F., ALEXANDRE, R. S., GUILHEN, J. H. S., PRAÇA-FONTES, M. M., FERREIRA, A., & DA SILVA FERREIRA, M. F. Vegetative and reproductive performance of species of the genus *Passiflora*. **Scientia Horticulturae**, v. 265, p. 109193. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109193>.

BERRY, C. W., WOLF, S. T., MURRAY, B., & KENNEY, W. L. Hydration Efficacy of a Milk Permeate-Based Oral Hydration Solution. **Nutrients**, v. 12, n. 5, p. 1502. 2020. <https://doi.org/10.3390/nu12051502>.

BLIGH, E. G., & DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v. 37, n. 8, p. 911-917. 1959.

BOUMAIZA, M., COLARUSSO, A., PARRILLI, E., GARCIA-FRUITÓS, E., CASILLO, A., ARÍS, A., TUTINO, M. L. Getting value from the waste: recombinant production of a sweet protein by *Lactococcus lactis* grown on cheese whey. **Microbial cell factories**, v. 17, n. 1, p. 1-9. 2018. <https://doi.org/10.1186/s12934-018-0974-z>.

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 and Technology**. 2017.

BRASIL. Instrução Normativa nº16 de 23 de agosto de 2005. **Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebida Láctea**. Diário Oficial da União, Seção 1, p. 7, 2005. Disponível em: http://www.lex.com.br/doc_411405_INSTRUCAO_NORMATIVA_N_16_DE_23_DE_AGOSTO_DE_2005. Acesso em 07 de setembro de 2021.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 68, de 12 de dezembro de 2006. **Métodos Analíticos Físico-Químicos para o Controle de Leite e Produtos Lácteos**. Diário Oficial da União, Seção 1, p. 08. 2006. Disponível em: <https://wp.ufpel.edu.br/inspleite/files/2016/03/Instru%C3%A7%C3%A3o-normativa-n%C2%B0-68-de-12-dezembro-de-2006.pdf>. Acesso em 21 de agosto de 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde/ Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 18, de 27 de setembro de 2010. **Regulamento técnico, alimento para praticante de atividade física, atleta profissional**. Diário Oficial da União, Seção I, p. 211, 2010. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/RDC_18_2010_COMP.pdf/1f6e1baf-fd83-4408-8e97-07578fe3db18. Acesso em 13 de setembro de 2021.

BRASIL (2018.a). Ministério da Saúde/ Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Instrução Normativa nº 28 de 26 de julho de 2018. **Listas de constituintes, limites de uso, alegações e de rotulagem complementar dos suplementos alimentares**. Diário Oficial da União n 144, Seção I, p. 141 – 154. 2018. Disponível em: <https://www.in.gov.br/materia/->

[/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/34380639/doi-2018-07-27-instrucao-normativa-in-n-28-de-26-de-julho-de-2018-34380550](#). Acesso em 13 de setembro de 2021.

BRASIL. (2018.b). Instrução Normativa nº49 de 26 de setembro de 2018. **Padrões de Identidade e Qualidade de Suco e Polpa de Fruta**. Diário Oficial da União, Seção 1, p. 4, 2018.b. Disponível em: http://www.in.gov.br/web/guest/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/42586576/doi-2018-09-27-instrucao-normativa-n-49-de-26-. Acesso em 07 de setembro de 2021.

CARVALHO, F.; PRAZERES, A. R.; RIVAS, J. Cheese whey wastewater: characterization and treatment. **Science of the Total Environment**. v. 445–446, p. 385–396. 2013. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.12.038>.

CAROTA, E.; CROGNALE, S.; D'ANNIBALE, A.; GALLO, A. M.; STAZI, S. R.; PETRUCCIOLI, M. A sustainable use of ricotta cheese whey for microbial biodiesel production. **Science of the Total Environment**, v. 584, p. 554-560, 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.01.068>.

CHATTERJEE, A., & ABRAHAM, J. A comprehensive study on sports and energy drinks. In **Sports and Energy Drinks**. Woodhead Publishing. v. 10, p. 515-537. 2019. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815851-7.00015-2>.

COELHO, M. D. S. E., DE ANDRADE BORTOLETI, K. C., DE ARAÚJO, F. P., & DE MELO, N. F. Cytogenetic characterization of the *Passiflora edulis* Sims x *Passiflora cincinnata* Mast. interspecific hybrid and its parents. **Euphytica**. v. 210, p. 93–104. 2016.

COLAKOGLU, F. F.; CAYCI, B.; YAMAN, M.; KARACAN, S.; GONULATES, S.; IPEKOGLU, G.; ER, F. The effects of the intake of an isotonic sports drink before orienteering competitions on skeletal muscle damage. **Journal of Physical Therapy Science**. v. 28, n. 11, p. 3200–3204. 2016. <https://dx.doi.org/10.1589%2Fjpts.28.3200>.

CORRÊA, L. C.; RYBKA, A. C. P.; SILVA, P. T. S.; BIASOTO, A. C. T.; PEREIRA, G. E. **Determinação de Açúcares em Mosto, Sucos de Uva e Vinho por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (Clae)**. Embrapa Semiárido. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 15 p. 2013. Disponível em: <https://www.embrapa.br/uva-e-vinho/busca-de-publicacoes/-/publicacao/994017/determinacao-de-acucares-em-mosto-sucos-de-uva-e-vinho-por-cromatografia-liquida-de-alta-eficiencia-clae>. Acesso em 13 de fevereiro de 2020.

CORRÊA, R. C. G.; PERALTA, R. M.; HAMINIUK, C. W. I.; MACIEL, G. M.; BRACHT, A.; FERREIRA, I. C. F. R. The past decade findings related with nutritional composition, bioactive molecules and biotechnological applications of *Passiflora* spp. **Trends Food Science and Technology**. v. 58, p. 79-95. 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2016.10.006>.

DANTAS, A. B., JESUS, V. F., SILVA, R., ALMADA, C. N., ESMERINO, E. A., CAPPATO, L. P., ... & CRUZ, A. G. Manufacture of probiotic Minas Frescal cheese

with *Lactobacillus casei* Zhang. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 1, p. 18-30. 2016. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9880>

D'ABADIA, A. C. A., COSTA, A. M., FALEIRO, F. G., MALAQUIAS, J. V., & ARAÚJO, F. P. D. Physical-chemical and chemical characterization of *Passiflora cincinnata* Mast fruits conducted in vertical shoot positioned trellis and horizontal trellises system. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 41, n. 6. 2019. <https://doi.org/10.1590/0100-29452019452>.

DUTCOSKY, S. D. **Análise Sensorial de Alimentos** (5.ed.). Champagnat – Pucpress. Champagnat. 540 p. ISBN: 9788554945473. 2019.

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; JUNGHANS, T. G.; JESUS, O. N.; MIRANDA, D.; OTONI, W. C. Advances in passion fruit (*Passiflora* spp.) propagation. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 41, n. 2, e-155. 2019. <http://dx.doi.org/10.1590/0100-29452019155>.

FERREIRA, P. R., MARINS, J.C.B., DE OLIVEIRA, L.L., BASTOS, D.S. S., JÚNIOR, D.T.S., 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, p. 103749. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.103749>

FERREIRA, Letícia Rocha. **Bebida isotônica formulada a base de permeado obtido da ultrafiltração do soro de leite adicionado de carotenoides em pó de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.)**. 86 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2017.

FERREIRA, L. R., FONTES, E. A. F., MARINHO, L. M. G., DE BARROS, F. A. R., STRINGHETA, P. C., & RAMOS, A. M. Elaboration, characterization and color stability of an isotonic beverage based on whey permeate with carotenoid powder from pequi. **Research, Society and Development**. v. 10, n.8, e41810817233-e41810817233. <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i8.17233>.

GADIOLI, I. L.; CUNHA, M. S. B.; CARVALHO, M. V. O.; COSTA, A. M.; PINELI, L. L. O. 2018. A systematic review on phenolic compounds in *Passiflora* plants: Exploring biodiversity for food, nutrition, and popular medicine. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. v. 58, n.5, p. 785–807. <https://doi.org/10.1080/10408398.2016.1224805>.

GIRONÉS-VILAPLANA, A., HUERTAS, J. P., MORENO, D. A., PERIAGO, P. M., GARCIA-VIGUERA, C. Quality and microbial safety evaluation of new isotonic beverages upon thermal treatments. **Food Chemistry**, v. 194, p. 455–462. 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.08.011>.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. Sistema IBGE de Recuperação Automática – SIDRA. **Produção de maracujá no Brasil – Ano 2019** (Dados atualizados em 01/10/2020). Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/5457#resultado>. Acesso em 23 de agosto de 2021.

KONG, S. H.; KIM, J. H.; HONG, A. R.; LEE, J.H.; KIM, S.W.; SHIN, C.S. Dietary potassium intake is beneficial to bone health in a low calcium intake population: The Korean National Health and Nutrition Examination Survey (KNHANES) (2008–2011). **Osteoporosis International**, v. 28, n. 5, p. 1577-1585. 2017. <https://doi.org/10.1007/s00198-017-3908-4>.

KREIDER, R. B.; WILBORN, C. D.; TAYLOR, L.; CAMPBELL, B.; ALMADA, A. L.; COLLINS, R., ... & ANTONIO, J. ISSN exercise & sport nutrition review: research & recommendations. **Journal of the international society of sports nutrition**, v. 7, n. 1, p. 1-43, 2010. <http://www.jissn.com/content/7/1/7>.

LANE, J. H.; EYNON, L. (1934). **Determination of reducing sugars by Fehling's solution with methylene blue indicator**. Normam Rodge, London.

LAVOR, E.M; LEALA, A.E.B.P.; FERNANDES, A.W.C.; RIBEIRO, F.P.R.A.; BARBOSA, J.M.; SILVA, M.G.; TELES, R.B.A.; OLIVEIRA, L.F.S.; SILVA, J.C.; ROLIM, L.A.; MENEZES, I.R.A, ALMEIDA, J.R.G.S. Ethanolic extract of the aerial parts of *Passiflora cincinnata* Mast. (*Passifloraceae*) reduces nociceptive and inflammatory events in mice. **Phytomedicine**. v. 47, p. 58–68. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2018.04.052>

LEES, D.; FRANCIS, F. 1972. Standardization of pigment analyses in cranberries. **HortScience**, Alexandria, v. 7, n. 1, p. 83-84.

MALABARBA, G. B. **Estudo sobre o Processo Decisório de Compra de Suplementos Alimentares por Praticantes de Atividades Físicas**. Porto Alegre, 2017. 90 p. Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação (Administração). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2017.

MARAGKLOUDAKIS, P., VENDRAMIN, V., BOVO, B., TREU, L., CORICH, V., & GIACOMINI, A. Potential use of scotta, the by-product of the ricotta cheese manufacturing process, for the production of fermented drinks. **The Journal of Dairy Research**, v. 83, n. 1, p. 104-108. 2016. <http://dx.doi.org/10.1017/S002202991500059X>.

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**. E-ISSN: 2321-4902. v. 5, n. 5, p. 1494-1498. 2017. <http://dr.lib.sjp.ac.lk/handle/123456789/7778>.

MCCARTNEY, D.; DESBROW, B.; IRWIN, C. Post-exercise ingestion of carbohydrate, protein and water: a systematic review and metaanalysis for effects on subsequent athletic performance. **Sports Medicine**, v. 48, n. 2, p. 379-408. 2018. <https://doi.org/10.1007/s40279-017-0800-5>.

MENESES, R. B., DE MELO, C. W. B., PIRES, T. C., MELO, T. S., MACIEL, L. F., DA ROCHA-LEÃO, M. H. M., & CONTE-JUNIOR, C. A. Feasibility of utilizing ricotta cheese whey in chocolate ice cream. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 11, p. 90865-90883. 2020. <https://doi.org/10.34117/bjdvn11-482>.

MEZQUITA, P. C.; ESPINOSA ÁLVAREZ, C.; PALMA RAMÍREZ, J.; BUGUEÑO MUÑOZ, W.; SALINAS FUENTES, F.; & RUIZ-DOMÍNGUEZ, M. D. C. Isotonic Beverage Pigmented with Water-Dispersible Emulsion from Astaxanthin Oleoresin. **Molecules**, v. 25, n. 4, p. 841, 2020. <https://doi.org/10.3390/molecules25040841>.

MIRANDA, G. S., PEIXOTO, J. R., VILELA, M. S., PIRES, M. C., & NÓBREGA, D. D. S. Reaction of yellow passion fruit genotypes to septorioses in field conditions of the Federal District, Brazil. In **XXX International Horticultural Congress – IHC 2018: VII International Symposium on Tropical and Subtropical Fruits, Avocado**, II 1299, p. 251-256. 2018. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2020.1299.37>.

MONARI, S., FERRI, M., RUSSO, C., PRANDI, B., TEDESCHI, T., BELLUCCI, P., TASSONI, A. Enzymatic production of bioactive peptides from scotta, an exhausted by-product of ricotta cheese processing. **Plos One**, v. 14, n. 12, e0226834. 2019. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0226834>.

MONTI, L.; DONATI, E.; ZAMBRINI, A. V.; CONTARINI, G. Application of membrane technologies to bovine Ricotta cheese exhausted whey (scotta). **International Dairy Journal**, v. 85, p. 121-128. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2018.05.007>

MUNDO DAS MARCAS. **Gatorade**. Atualizado em 15 de setembro de 2020. Disponível em: <https://mundodasmarcas.blogspot.com/2006/05/gatorade-is-it-in-you.html>. Acesso em 28 de agosto de 2021.

NAGATA, M.; YAMASHITA, I. Simple method for simultaneous determination of chlorophyll and carotenoids in tomato fruit. **Journal of Japanese Society of Food Science and Technology**, v. 39, p. 925–928. 1992. <https://doi.org/10.3136/nskkk1962.39.925>.

NATIVIDADE, M. M. P.; CORRÊA, L. C.; SOUZA, S. V. C.; PEREIRA, G. E.; LIMA, L. C. O. Simultaneous analysis of 25 phenolic compounds in grape juice for HPLC: Method validation and characterization of São Francisco Valley samples. **Microchemical Journal**. v. 110, p. 665–674. 2013. <http://dx.doi.org/10.1016/j.microc.2013.08.010>.

NETO, B.P.C.; BEZERRA, W.H.F.; AIDAR, S.T.; CHAVES, A.R.M.; ARAÚJO, F.P.; FALEIRO, F.G..Comportamento Ecofisiológico de *Passiflora cincinnata* e seu Desempenho como Porta-enxerto de *Passiflora edulis* sob déficit hídrico. **XII Journey of Scientific Initiation - Embrapa Semiárido**. 2017. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1073282/comportamento-ecofisiologico-de-passiflora-cincinnata-e-seu-desempenho-como-porta-enxerto-de-passiflora-edulis-sob-deficit-hidrico>. Acesso em 13 de setembro de 2021.

O'BRIEN, W. J., STANNARD, S. R., CLARKE, J. A., ROWLANDS, D. S. Fructose-maltodextrin ratio governs exogenous and other CHO oxidation and performance. **Medicine & Science & Sports in Exercise**. v. 45, p. 1814–1824. 2013. <https://doi.org/10.1249/mss.0b013e31828e12d4>.

OCAMPO, J.; ARIAS, J.C.; URREA, R. Interspecific hybridization between cultivated and wild species of genus *Passiflora* L. **Euphytica**. v. 209, n. 2, p. 395–408. 2016. <http://dx.doi.org/10.1007/s10681-016-1647-9>.

OLIVEIRA, E. P., BURINI, R. C. Carbohydrate-dependent, exercise-induced gastrointestinal distress. **Nutrients**. v. 6, p. 4191–4199. 2014. <https://doi.org/10.3390/nu6104191>.

PEREIRA, P. P. A.; LIMA, L. K. S.; SOARES, T. L.; LARANJEIRA, F. F.; JESUS, O. N.; GIRARDI, E. A. Initial vegetative growth and survival analysis for the assessment of Fusarium wilt resistance in *Passiflora* spp. **Crop Protection**. v. 121, p. 195–203. 2019. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2019.03.018>.

PIRES, A. F., MARNOTES, N.G., RUBIO, O.D., GARCIA, A.C., PEREIRA, C.D. Dairy By-Products: A Review on the Valorization of Whey and Second Cheese Whey. **Foods**, v. 10, n. 5, p. 1067. 2021. <https://doi.org/10.3390/foods10051067>.

PORFÍRIO, M. C. P., GONÇALVES, M. S., BORGES, M. V., LEITE, C. X. D. S., SANTOS, M. R. C., SILVA, A. G. D., ... & SILVA, M. V. D. Development of isotonic beverage with functional attributes based on extract of *Myrciaria jabuticaba* (Vell) Berg. **LWT - Food Science and Technology**. v. 40, n. 3, p. 614-620. 2019. <https://doi.org/10.1590/fst.14319>

RAHO, S., CAROFIGLIO, V. E., MONTEMURRO, M., MICELI, V., CENTRONE, D., STUFANO, P., ... & RIZZELLO, C. G. Production of the Polyhydroxyalkanoate PHBV from ricotta cheese exhausted whey by *Haloferax mediterranei* fermentation. **Foods**, v. 9, n. 10, p. 1459-2020. <https://doi.org/10.3390/foods9101459>.

RAIZEL, R.; COQUEIRO, A. Y.; BONVINI, A.; TIRAPEGUI, J. **Sports and energy drinks: Aspects to consider**. In *Sports and Energy Drinks*. p. 1-37. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815851-7.00001-2>.

RAMA, G. R., DULLIUS, D., AGNOL, W. D., ESQUERDO, V. M., LEHN, D. N., & SOUZA, C. F. V. D. Ricotta whey supplemented with gelatin and collagen for the encapsulation of probiotic lactic acid bacteria. **Food Science and Technology - Campinas**, v. 41, n. 3, p. 576-586. 2021. <https://doi.org/10.1590/fst.19720>.

RIBEIRO, J. E. S., MARTINI, M., ANDREUCCI, A., ALTOMONTE, I., D'ASCENZI, C., MARZONI, M., MANCIANTI, F. Preliminary investigation of reuse of Ricotta-cheese whey (scotta) as substrate for the growth of *Rhodotorula glutinis* intended for the production of carotenoids. **Journal of Agricultural and Biological Science**, v. 12, n. 10, p. 302-306. 2017.

ROCHA, D. I., BATISTA, D. S., FALEIRO, F. G., ROGALSKI, M., RIBEIRO, L. M., MERCADANTE-SIMÕES, M. O., ... & SOARES, W. S. **Chapter 23. Passiflora spp. Passionfruit**. In: *Biotechnology of fruit and nut crops*. ISBN 9781780648279. p. 381. 2020. <http://dx.doi.org/10.1079/9781780648279.0381>.

ROCHA-MENDOZA, D.; KOSMERL, E.; KRENTZ, A.; ZHANG, L.; BADIGER, S., MIYAGUSUKU-CRUZADO, G.; ...GARCÍA-CANO, I. Invited review: Acid whey

trends and health benefits. **Journal of Dairy Science**, v. 104, n. 2, p. 1262–1275. 2020. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-19038>.

ROWLANDS, D. S., HOULTAM, S., MUSA-VELOSO, K., BROWN, F., PAULIONIS, L., BAILEY, D. Fructose-glucose composite carbohydrates and endurance performance: critical review and future perspectives. **Sports Medicine**. v. 45, p. 1561–1576. 2015.

RUFINO, M. S. M., FERNANDES, F. A. N., ALVES, R. E., & BRITO, E. S. Free radical-scavenging behaviour of some north-east Brazilian fruits in a DPPH_ system. **Food Chemistry**. v. 114, n. 2, p. 693–695. 2009. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.098>

RUFINO, M. S. M. **Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pelo Método de Redução do Ferro (FRAP)**. Comunicado Técnico 125. Embrapa. Fortaleza – CE. Dez. 2006.

RUSSO, I., CAMÕES-COSTA, V., GASKELL, S. K., PORTER, J., BURKE, L., & COSTA, R. J. Systematic literature review: The effect of dairy milk on markers of recovery optimisation in response to endurance exercise. **International Journal of Sports Science**, p. 69-85. 2019. <https://doi.org/10.5923/j.sports.20190904.01>

SANTOS, J. L. **Fisiologia da maturação de frutos e superação de dormência em sementes de maracujá-do-mato (*Passiflora cincinnata* Mast.)**. 82 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Programa de Pós-Graduação em Agronomia. 2018.

SANTOS, T. B., DE ARAUJO, F. P., NETO, A. F., DE FREITAS, S. T., DE SOUZA ARAÚJO, J., DE OLIVEIRA VILAR, S. B., ... & LIMA, M. S. Phytochemical Compounds and Antioxidant Activity of the Pulp of Two Brazilian Passion Fruit Species: *Passiflora cincinnata* Mast. And *Passiflora edulis* Sims. **International Journal of Fruit Science**, v. 22, p. 1-15. 2021. <https://doi.org/10.1080/15538362.2021.1872050>.

SCHLABITZ, C. et al. Shelf life of a synbiotic fermented dairy beverage using ricotta cheese whey. **American Journal of Food Technology**. v. 10, n. 6, p. 254-264. 2015.

SEERY, S.; JAKEMAN, P. A metered intake of milk following exercise and thermal dehydration restores whole-body net fluid balance better than a carbohydrate-electrolyte solution or water in healthy young men. **British Journal of Nutrition**, v. 116, n. 6, p. 1013–1021. 2016. <https://doi.org/10.1017/s0007114516002907>.

SIEBRA, A. L.; OLIVEIRA, L. R.; MARTINS, A. O. B. P. B.; SIEBRA, D. C.; ALBUQUERQUE, R. S.; LEMOS, I. C. S.; DELMONDES, G. A.; TINTINO, S. R.; FIGUEIREDO, F. G.; COSTA, J. G. M.; COUTINHO, H. D. M.; MENEZES, I. R. A.; FELIPE, C. F. B.; KERNTOPF, M. R. Potentiation of antibiotic activity by *Passiflora cincinnata* Mast. front of strains *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. **Saudi Journal of Biological Sciences**. v. 25, p. 37–43. 2018. <http://dx.doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.01.019>.

- SILVA, J. G. S., REBELLATO, A. P., GREINER, R., & PALLONE, J. A. L. Bioaccessibility of calcium, iron and magnesium in residues of citrus and characterization of macronutrients. **Food research international**, v. 97, p. 162-169. 2017. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.04.005>
- SIMIONI, C., ZAULI, G., MARTELLI, A. M., VITALE, M., SACCHETTI, G., GONELLI, A., & NERI, L. M. Oxidative stress: role of physical exercise and antioxidant nutraceuticals in adulthood and aging. **Oncotarget**, v. 9, n. 24, p. 17181. 2018. <https://dx.doi.org/10.18632/oncotarget.24729>.
- SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 20, p. 144-58. 1965.
- SOUZA, R. K. D., SILVA, M. A. P., MENEZES, I. R. A., RIBEIRO, D. A. R., BEZERRA, L. R., SOUZA, M. M. A. Ethnopharmacology of medicinal plants of carrasco, northeastern Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 157, p. 99–104. 2014. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.09.001>.
- SWARNALAKSHMI, C. S.; MANISHA, C. P.; HARINI, B.; AKSHARA, J.; JOSHIKA, G.; & KEERTHANA, R. Optimization and standardization of lemon grass incorporated into pseudostem and mint extracts based isotonic drink. **International Journal of Advance Research**, v. 5, n. 3, p. 1089-1093. 2019. <https://www.semanticscholar.org/paper/Optimization-and-standardization-of-lemon-grass-and-Swarnalakshmi-Manisha/2a4067ad7781d7ebdb8ba749bbb44c9ba7a6a8aa>.
- TEDESCO, M. J.; GIANELLO, C. BISSANI, C. A.; BOHNEN, H.; VOLKWEISS, S. J. **Análises de solo, plantas e outros materiais**. Boletim Técnico nº 5. Edição 2 revisada e ampliada. UFRGS, Porto Alegre: Departamento de Solos, UFRGS. 1995.
- TEIXEIRA, N.; MELO, J.C.S.; BATISTA, L.F.; SOUZA, J.P.; FRONZA, P.; BRANDÃO, M.G.L. 2019. Edible fruits from Brazilian biodiversity: A review on their sensorial characteristics *versus* bioactivity as tool to select research. **Food Research International**. v. 119, p. 325–348. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.01.058>.
- THOMAS, D. T.; ERDMAN, K. A.; BURKE, L. M. Position of the academy of nutrition and dietetics, dietitians of Canada, and the American College of Sports Medicine: nutrition and athletic performance. **Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics**, v. 116, n. 3, p. 501-528. 2016. <https://doi.org/10.1016/j.jand.2015.12.006>.
- TOMCZYK, M., ZAGUŁA, G., & DŹUGAN, M. A simple method of enrichment of honey powder with phytochemicals and its potential application in isotonic drink industry. **LWT - Food Science and Technology**. v. 125, p. 109204. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109204>.
- TOSCANO, L. D. L. T., SILVA, A. S., DE FRANÇA, A. C. L., DE SOUSA, B. R. V., DE ALMEIDA FILHO, E. J. B., DA SILVEIRA COSTA, M., ... & GONÇALVES, M. D. C. R. Correction to: A single dose of purple grape juice improves physical performance and antioxidant activity in runners: a randomized, crossover, double-blind,

placebo study. **European Journal of Nutrition**, v. 60, n. 1, p. 553-553. 2021. <https://doi.org/10.1007/s00394-020-02453-4>

TRINDADE, M. B.; SOARES, B. C.; SCUDINO, H.; GUIMARAES, J. T.; ESMERINO, E. A., FREITAS, M. Q.; ... CRUZ, A. G. Cheese whey exploitation in Brazil: a questionnaire survey. **Food Science and Technology**, v. 39, n. 3, p. 788-791. 2019. <https://doi.org/10.1590/fst.07419>.]

TUPUNA-YEROVI, D. S.; PAESE, K.; FLÔRES, S. H.; GUTERRES, S. S.; & RIOS, A. Addition of norbixin microcapsules obtained by spray drying in an isotonic tangerine soft drink as a natural dye. **Journal of Food Science and Technology**, v. 57, n. 3, p. 1021-1031. 2020. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-04135-4>.

VALADAO, N. K.; ANDRADE, M. G. D.; JORY, J. C.; GALLO, F. A.; PETRUS, R. R. Development of a Ricotta Cheese Whey-based Sports Drink. **Journal Advances in Dairy Research**. v. 4, n. 3. p. 1-6. 2016. <https://doi.org/10.4172/2329-888X.1000156>.

ZOTTA, T., SOLIERI, L., IACUMIN, L., PICOZZI, C., GULLO, M. Valorization of cheese whey using microbial fermentations. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 104, n. 7, p. 2749-2764. 2020. <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10408-2>.

ZULUETA, A., ESTEVE, M. J., FRÍGOLA, A. ORAC and TEAC assays comparison to measure the antioxidant capacity of food products. **Food Chemistry**. v. 114, n. 1, p. 310-316. 2009. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.033>.

RESULTADOS

Os resultados desta tese estão distribuídos na forma de 3 artigos, que são apresentados nos tópicos seguintes.

Artigo 1 - Estudo Prospectivo sobre Bebidas Isotônicas: Publicado em *Cadernos de Prospecção* em 2019 (DOI: 10.9771/cp.v12i4.28656).

Artigo 2 - Physico-chemical quality, bioactive compounds and in vitro antioxidant activity of a new variety of passion fruit cv. BRS Sertão Forte (*Passiflora cincinnata* Mast.) from Brazilian Semiarid: Publicado em *Scientia Horticulturae* em 2020 (DOI: 10.1016/j.scienta.2020.109595).

Artigo 3 - Mineral bioaccessibility, phenolic compounds and antioxidant activity of new sports drinks with Ricotta cheese whey and passion fruit cv. BRS Sertão Forte: Submetido e aguardando avaliação em *LWT – Food Science and Technology*.

ARTIGO 1 – Estudo Prospectivo sobre Bebidas Isotônicas**Estudo Prospectivo sobre Bebidas Isotônicas***Prospective Study on the Production of Isotonic Beverages**Graciete de Souza Silva¹**Haíssa Roberta Cardarelli¹*¹Universidade Federal da Paraíba, Cidade Universitária, PB, Brasil**Resumo**

As bebidas isotônicas são suplementos formulados com a finalidade de repor as perdas hídricas e eletrolíticas de atletas em decorrência de treinamento ou competição. O desenvolvimento de novas formulações desse tipo de bebida pode contribuir com o avanço do setor de bebidas esportistas, aumentando o seu consumo e comercialização. Nesse sentido, vários estudos recentes têm revelado a viabilidade da incorporação de produtos naturais em isotônicos e diversas patentes sobre esse tema têm sido registradas em nível mundial. Este trabalho teve por objetivo fazer um mapeamento de bebidas isotônicas desenvolvidas e patenteadas.

Palavras-chave: Hidratação. Inovação. Suplemento.

Abstract

Isotonic drinks are supplements formulated for the purpose of replenishing the water and electrolyte losses of athletes as a result of training or competition. The development of new formulations of this type of drink can contribute to the advancement of the sports drinks sector, increasing its consumption and commercialization. In this sense, several recent studies have revealed the viability of the incorporation of natural products into isotonic drinks and several patents on this subject have been registered world-wide. This work aimed to make a mapping of developed and patented isotonic drinks.

Keywords: Hydration. Innovation. Supplement.

Área tecnológica: Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Cadernos de Prospecção – Salvador, v. 12, n. 4, p. 865-877, dezembro, 2019.

DOI: 10.9771/cp.v12i4.28656

Disponível em: <https://portalseer.ufba.br/index.php/nit/article/view/28656>.

ARTIGO 2 – Physico-chemical quality, bioactive compounds and in vitro antioxidant activity of a new variety of passion fruit cv. BRS Sertão Forte (*Passiflora cincinnata* Mast.) from Brazilian Semiarid

Graciete de Souza Silva ^a; Graciele da Silva Campelo Borges ^a; Clívia Danúbia Pinho da Costa Castro ^b; Saulo de Tarso Aida ^{b,*}; Aline Telles Biasoto Marques ^b; Sérgio Tonetto de Freitas ^b; Ana Cecília Poloni Rybka ^b; Haíssa Roberta Cardarelli ^a.

^a Department of Food Technology, Center of Technology and Regional Development, Federal University of Paraíba, Campus V, 58051-900 João Pessoa, Paraíba, Brazil.

^b Brazilian Agricultural Research Corporation – Embrapa Semiárido, Rodovia BR 428, Km 152, CEP 56302-970 Petrolina, PE, Brazil.

* Corresponding author: Avenida dos Escoteiros, s/n, Mangabeira VII, 58055-000, João Pessoa, Paraíba, Brazil.

E-mail address: hrcarda@gmail.com

Telephone: +55 (83) 3216 7947.

Abstract

Passiflora cincinnata Mast cv. BRS Sertão Forte is a cultivar resultant from the genetic improvement of the species *Passiflora cincinnata*, popularly known as maracujá-da-Caatinga, which presents higher field yield and pulp productivity compared to the native plant and may represent an alternative to the exotic fruit market, intended for *in natura* consumption or industrialization. Thus, this study aimed to characterize the physicochemical composition, determine the profile of phenolic compounds and the antioxidant potential of these fruits in different ripening stages suitable for consumption. The mature pulps had a higher content of ascorbic acid (17.67 mg 100 g⁻¹), sugars (3.16%), β-carotene (16.62 μg 100 g⁻¹) and total flavonoids (155.62 mg 100 g⁻¹). Stand out the content of minerals such as K (413.34 mg 100 g⁻¹) in mature pulps and Ca (40.59 mg 100 g⁻¹) in pulps with intermediate maturation. The major phenolics in the pulps are isoquercetin (32.25 μg g⁻¹) and caftaric acid (7.5 μg g⁻¹) with higher content in intermediate maturing pulps, and rutin (7.46 μg g⁻¹) with higher content in the mature pulps. These bioactive compounds contribute to the antioxidant activity presented in the ORAC, DPPH and FRAP assays. It is concluded that the passion fruit 'BRS Sertão Forte' is a fruit with different mineral content such as K and Ca and bioactive compounds in relation to other *Passiflora* species, having promising potential to exploitation for cultivation in semiarid regions.

Keywords: Phytochemicals. Maracujá-da-Caatinga. *Passiflora cincinnata*.

Publicado em *Scientia Horticulturae* (<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109595>).

ARTIGO 3 – Mineral bioaccessibility, phenolic compounds, and antioxidant activity of new sports drinks with Ricotta cheese whey and passion fruit cv. BRS Sertão Forte

Graciete de Souza Silva ^a; Clívia Danúbia Pinho da Costa Castro ^b; Graciele da Silva Campelo Borges ^{a, c}; Sérgio Tonetto de Freitas ^b; Saulo de Tarso Aida ^b; Aline Camarão Telles Biasoto Marques ^b; Ana Cecília Poloni Rybka ^b; Haíssa Roberta Cardarelli ^{a,*}.

^a *Department of Food Technology, Center of Technology and Regional Development, Federal University of Paraíba, Campus I, 58058-600 João Pessoa, Paraíba, Brazil.*

^b *Brazilian Agricultural Research Corporation – Embrapa Semiárido, Rodovia BR 428, Km 152, 56302-970 Petrolina, PE, Brazil.*

^c *Center for Chemical, Pharmaceutical and Food Sciences, Federal University of Pelotas, 96010-610 Pelotas, Rio Grande do Sul, Brazil.*

*Corresponding author: Avenida dos Escoteiros, s/n, Mangabeira VII, 58058-600, João Pessoa, Paraíba, Brazil.

E-mail address: hrcarda@gmail.com

Telephone: +55 (83) 32167947.

ABSTRACT

New sports drinks with Ricotta cheese whey (RCW) and passion fruit ‘BRS Sertão Forte’ were developed. Three formulations were developed: I1 with 50% RCW and 5% passion fruit pulp, I2 with 50% RCW and 8.5% pulp, and I3 with 30% RCW and 12% pulp. I3 showed higher ascorbic acid content and antioxidant activity, exhibited the highest scores in the consumer test, and maintained its physicochemical stability and microbiological safety during the storage at 7 °C for 56 days. (-)-Epicatechin gallate, (-)-epigallocatechin gallate, and *cis*-resveratrol were the main phenolic compounds quantified in the isotonic beverages. I1 and I3 exhibited high bioaccessibility of the minerals K, Na, and Mg (37% to 70%) compared to I2, which showed bioaccessibility between 31% and 40%. All the formulations presented good sensory acceptance by consumers of isotonic beverages and are good sources of bioactive compounds. The beverages developed are innovative alternatives for the market of supplements for athletes, combining the use of a dairy industry by-product and a new variety of passion fruit.

Keywords: *In vitro* digestion. Isotonic beverage. Maracujá-da-Caatinga. *Passiflora cincinnata*. Whey.

1. Introduction

The demand for health and better life quality has caused important changes in people's lifestyles, who began to exercise more over time. Given this fact, an increasing number of athletes have been observed, which reflects the increased demand for products that meet specific needs such as hydration and electrolyte replenishment (Raizel, Coqueiro, Bonvini, & Tirapegui, 2019).

Isotonic beverages, also referred to as sports drinks, are intended to quickly replenish body fluids and electrolytes lost by athletes and other individuals exposed to intense physical activities. For better absorption, these supplements should have between 200 and 330 mOsm Kg⁻¹ of osmolality, and 6 to 8% of carbohydrates (Marapana, Chandrasekara, & Aponso, 2017). As products commonly associated with sports and healthy living, the use of natural ingredients in the formulations of those beverages tends to increase consumer interest when compared to other commercially available sports drinks, which are often produced with artificial flavor and aroma (Tomczyk, Zagula, & Dżugan, 2020).

Recent evidence suggests that beverages containing nutrients such as milk or dairy-based supplements can promote better retention of body fluids and reduced cumulative urine production, with a higher hydration index than a traditional sports drink (Berry, Wolf, Murray, & Kenney, 2020; Russo et al., 2019).

In this sense, previous research reported the use of whey permeate from the production of mozzarella cheese (Becker et al., 2021; Abella et al., 2016, Ferreira et al., 2020) in the formulation of sports drinks. However, few studies reported the application of second cheese whey, such as Ricotta cheese whey (RCW), in this type of product.

The Ricotta cheese whey (RCW) is obtained in large quantities during the production of Ricotta (up to 97% yield) and still has few alternative uses in the food industry. Although similar to other cheese whey, RCW consist of a product with lower amounts of fat and protein and higher content of minerals and organic acids due to added acid and salt and the temperatures it is exposed during the production process (Monti et al., 2018; Raho et al., 2020). Therefore, RCW is a promising raw material for use in isotonic beverages due to its low caloric value and the presence of minerals such as Na, K, Ca, and Mg (Valadão et. al 2016), which can help to rehydrate after physical activity.

Despite the importance of minerals in athletes' diets, they are not always bioaccessible to the human organism. Bioaccessibility of minerals corresponds to the

fraction of a given mineral that is released from food in the intestinal tract during digestion and which may become available for absorption (Santos, Saraiva, Vicente, & Moldão, 2019), and its study can help to understand the influence of the various ingredients in the absorption of the nutrients in sports drinks.

Recent studies have added to sports drinks other important components for the athletes' diet, such as antioxidant compounds, which contribute to avoiding muscular and oxidative stress that intense physical exercise can generate (Ali et al., 2021). Some studies evidenced the use of different fruits as sources of vitamin C and other bioactive compounds, such as jabuticaba peels and pulps (Ferreira et al. 2020; Porfírio et al., 2019) and purple grape juice (Toscano et al., 2021). Thus, the development of RCW-based isotonic beverages added with fruits can contribute to improving their functional properties.

'BRS Sertão Forte' passion fruit is a new cultivar of wild passion fruit, native from the Brazilian *Caatinga* region, obtained by genetic improvement of *Passiflora cincinnata* Mast. Popularly known as maracujá-da-Caatinga, this species has a pleasant exotic flavor, differentiated and intense aroma, and high antioxidant capacity due to its high content of vitamin C and phenolic compounds such as isoquercetin and rutin. Moreover, the 'BRS Sertão Forte' passion fruit presents higher content of K, Na, Ca, and Mg compared to other species of passion fruit (Silva et al., 2020), which demonstrates its promising potential for exploitation in the market of supplements for athletes.

The present study aimed to develop new isotonic beverage formulations based on RCW and passion fruit cv. BRS Sertão Forte flavor, and investigate the content of minerals and their bioaccessibility, phenolic compounds, *in vitro* antioxidant activity, and sensory acceptance.

2. Materials e Methods

2.1 Production of Ricotta cheese whey

Minas Frescal cheese was produced according to Dantas et al., (2016). The whey obtained was reserved for the experiment. The Ricotta was produced following the steps of slow heating of the whey to 85 °C, adding of 85% v/v lactic acid solution (1.5 mL L⁻¹, Ricanata, MG, Brazil), heating to 90 °C, cooling to 30 °C, and letting it rest to separate the whey proteins (Ricotta), according to Valadão et al. (2016).

The resulting Ricotta cheese whey (RCW) was subjected to sterilization process by autoclaving with fluent steam at 100 °C for 15 min and then stored in a horizontal freezer at -18 ± 2 °C in absence of light, in order to preserve its quality during the period of the experiment. The physical and chemical characteristics and antioxidant activity of the RCW were assessed according to the methods described below (2.4, 2.6, 2.8), and the results are presented in a supplementary material (Table S1).

2.2 Obtaining passion fruit pulps

The passion fruit (*P. cincinnata* Mast. cv. BRS Sertão Forte) pulp was obtained from ripe fruit produced at Embrapa Semiárido, Petrolina, PE, Brazil (09°09' S and 40°22' W). The fruits were harvested and submitted to the washing process under running water, and then immersed in a sodium hypochlorite solution (200 mg L^{-1}) for 15 min. The pulp and seeds were then removed, and the fruits were pulped in an electric pulping machine (DMJI-05, Macanuda, Brazil). The extracted pulp was characterized for chemical parameters, mineral profile, bioactive compounds, and antioxidant capacity as previously described by Silva et al. (2020).

2.3 Isotonic beverages design

Different proportions of RCW, passion fruit pulp, and sucrose (União®, SP, Brazil) were used in the preparation of isotonic beverage formulations. Some preliminary tests were performed to verify the osmolality, sodium content, and total sugars. Osmolality should be between 270 and 330 mOsm L^{-1} , sodium between 460 mg L^{-1} and 1150 mg L^{-1} , and carbohydrates between 6 and 8%, according to Brazilian legal recommendations for this type of product (Brazil 2018a) and other international studies (Schleh & Dumke, 2018). Based on these tests and preliminary sensory analysis, three isotonic beverage formulations were chosen to conduct the study, as shown in Table 1.

Table 1 - Isotonic beverages formulations

	<i>Formulation</i>		
	I1 (%)	I2 (%)	I3 (%)
Ricotta cheese whey (v v^{-1})	50	50	30
Deionized water (v v^{-1})	42	38,5	53
Passion fruit pulp (v v^{-1})	5	8,5	12
Sucrose (m v^{-1})	3	3	5

The drinks were formulated in a sterile environment using a laminar flow cabinet, then were filtered in a nylon mesh milk strainer (P-32, Etiel, RS, Brazil), pasteurized at 85 °C for 30 s, and packaged in previously sanitized polyethylene terephthalate (PET) bottles. All formulations developed were stored at cold temperature (7 ± 2 °C).

2.4 Physicochemical characterization

The beverages were subjected to analyzes of total acidity determined by the titration method. The proteins were determined by the micro-Kjeldahl method, and total sugars were analyzed by the Lane Eynon method, following the AOAC procedures (2016). Lipids were analyzed according to the Bligh and Dyer method (1959), and lactose was determined as described by Adolfo Lutz Institute (IAL, 2008). Total soluble solids were measured with a digital refractometer (DR 500 Nova Instrumentos, SP, Brazil), and pH was determined with a potentiometer (MPA-210 Tecnopon, SP, Brazil). Osmolality was assessed by direct reading in vapor pressure osmometer (Vapro[®] 5600 Wescor Inc., France). The caloric value was calculated using the Atwater conversion values from the sum of the corresponding calories for proteins, lipids, and carbohydrates (Watt and Merrill, 1963).

The ascorbic acid concentration was analyzed by the Tillmans method (AOAC, 2016), which is based on the reduction of DCFI (2,6 dichlorophenolindophenol, Sigma-Aldrich, SP, Brazil) by ascorbic acid, and expressed as mg of ascorbic acid/100 mL.

Color analysis was assessed in a digital colorimeter (Delta Vista 450G, Delta Color, RS, Brazil) observing the coordinates: luminosity (L^*), red/green (a^*), yellow/blue (b^*), chromaticity (C), and hue angle (h°).

2.5 Phenolic compounds

Individual phenolic compounds were analyzed by high-performance liquid chromatography (Waters 2695 Alliance, Milford, MA) using the diode array detector (HPLC - DAD) following the method described by Natividade et al. (2013) and Costa et al. (2020). Data acquisition and processing were performed using Waters Empower[™] 2 software (Alliance, Milford, USA). The beverages were filtered through a 0.45 μ m nylon membrane (Analítica, SP, Brazil), and a volume of 50 μ L was injected into a Gemini-NX C18 (4.0 mm x 3.0 mm, Phenomenex, Torrance, CA, USA) pre-column, and a Gemini-NX C18 (150 mm x 4.60 mm x 3 μ m, Phenomenex) column. Using gradient elution, the

mobile phase consisted of a 0.85% solution of ortho-phosphoric acid (Fluka, Switzerland - phase A) in ultra-pure water (Purelab Option Q Elga System, USA) and HPLC grade acetonitrile (J. T. Baker, USA - phase B). The oven temperature was maintained at 40 °C, and the flow at 0.5 mL min⁻¹. For the identification and quantification of the compounds, the DAD 280, 320, and 360 nm wavelengths were used and compared to the standard calibration curves.

The ferulic acid standard was acquired from Chem Service (West Chester, USA). Gallic, caffeic, *trans*-caftaric, chlorogenic and *p*-coumaric acids, and piceatannol were acquired from Sigma-Aldrich (St. Luis, MO, USA). Kaempferol-3-*O*-glucoside, isorhamnetin-3-*O*-glucoside, quercetin-3- β -D-glucoside, rutin, (-)-epicatechin gallate, and (-)-epigallocatechin gallate standards were acquired from Extrasynthese (Geney, France), and the *cis*-resveratrol was acquired from Cayman Chemical (Michigan, USA).

2.6 Antioxidant activity

The DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radical capture assay was carried out using the method described by Rufino et al. (2009). A 180 μ L aliquot of an 80 μ M DPPH (Sigma-Aldrich, HAM, Germany) solution was added to 20 μ L of the sample, and the absorbance was read at 515 nm after 30 min using a microplate reader.

The FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) assay was performed according to Rufino et al. (2006). A 20 μ L aliquot of the sample was added to the flask followed by 180 μ L of the FRAP solution [0.3 mol L⁻¹ acetate buffer at pH 3.6, 10 mmol L⁻¹ TPTZ solution in 40 mmol L⁻¹ HCl, and 20 mM FeCl₃ (Sigma-Aldrich, Brazil)]. After 30 min of reaction, the absorbance was measured at 620 nm.

The antioxidant ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) assay was measured according to Zulueta, Esteve, and Frígola (2009). An aliquot of 20 μ L of the samples was mixed with 20 μ L of fluorescein and 60 μ L of AAPH [2,2'-azobis(2-methylpropionamidine)] (Sigma-Aldrich, Brazil) solution in the microplate. The microplate was read at 765 nm and the fluorescence was recorded for 100 min.

In all assays of the antioxidant activity, the spectrophotometric readings were obtained on a Fluostar Omega plate reader (BMG LABTECH, Ortenberg, Germany). The Trolox standard (Sigma-Aldrich, MO, USA) was used to construct the analytical curve and the results were expressed in μ M of Trolox per 100 mL of beverage.

2.7 *In vitro* mineral gastrointestinal digestion

The simulated gastrointestinal digestion system was performed according to Silva, Rebellato, Greiner, & Pallone (2017). Approximately 1 mL of beverage was weighed and homogenized in 96 mL of ultrapure water and the pH was adjusted to 2.0 with 6 M HCl. In the gastric digestion step, 3 mL of the pepsin solution (1.6 g in 10 mL of 0.1 M HCl) were added to the samples and then incubated for 2 h at 37 °C in an orbital shaker. This digestion was stopped using an ice bath for 10 min. The intestinal digestion simulation proceeded with pH adjustment of the samples to 5 using NaHCO₃ 1.0 M. Then, a solution containing pancreatin and bile salts was added, and the mixture was incubated at 37 °C for 2 h. Digestion was stopped with an ice bath and then the pH of the samples was corrected to 7.2. The digested samples were centrifuged at 3500g at 4 °C for 30 min, and the soluble fractions (bioaccessible) were separated. The quantification of total minerals and bioaccessible concentrations was performed according to the method described below (2.8). The percentage of bioaccessibility was calculated using the equation as follows: Bioaccessibility (%) = [(content of mineral after digestion / content of mineral before digestion) × 100].

2.8 Minerals

The mineral profile was determined according to Tedesco, Gianello, Bissani, Bohnen, and Volkweiss (1995). Approximately 1 g of beverage was weighed and homogenized in 6 mL of nitric-perchloric solution (3: 1, v/v, Sigma-Aldrich, Brazil) to obtain the extracts, which was allowed to stand for 4 h before being subject to organic digestion. Then, the volumes of the extracts were adjusted to 50 mL with Milli-Q® water for minerals analysis. Sodium (Na) and potassium (K) were analyzed from the direct reading of the extracts in a flame emission photometer (Micronal, B462, SP, Brazil) using a standard solution of Na and K (Analyser®, SP, Brazil) to construct the analytical curve. Calcium (Ca) and magnesium (Mg) analyzes were performed by diluting the extracts with lanthanum solution (0.1%, m/v, Sigma-Aldrich, Brazil) and the measurements were accomplished with an atomic absorption spectrometer (PerkinElmer®, PinAAcle 900H, SP, Brazil) using standard Ca and Mg solution (PerkinElmer®, Shelton, CT, USA) for the standard curve.

2.9 Microbiological analysis

Total aerobic mesophilic microorganisms, the most probable number of coliforms, and mold and yeast counts were assessed to quantify the microbial population before the sensory evaluation and during the storage, according to the APHA protocols for the microbiological examination of foods (APHA, 2015).

2.10 Sensory analysis

The research proposal was approved by the Brazilian Research Ethics Committee (approval number: 2.843.518). The consumer test was performed in the athletics space of the Federal University of Paraiba, with 50 volunteers selected (age 18-47 years, 68% male, 32% female), which was a specific group of potential consumers. The participants were pre-recruited among athletes of different sports who practiced physical activities several times a week and declared themselves consumers of isotonic beverages. The affective test of acceptance with a nine-point Hedonic Scale, ranging from "9-like extremely" to "1-dislike extremely" was used to evaluate the attributes of appearance, aroma, flavor, and overall acceptability. In the same session, the Purchase Intention test was applied using a categorical five-point scale (1 = certainly would not buy, 2 = possibly would not buy, 3 = might or might not buy, 4 = possibly would buy, and 5 = certainly would buy), as proposed by Meilgaard et al. (2006). For each participant, 50 mL of the drinks at 7 ± 2 °C were served in the monadic presentation order using transparent plastic cups encoded with three random digits. The samples were served to the participants in balanced order of presentation following the complete balanced block design suggested by Macfie et al. (1989) to three products. Water at room temperature was served between the samples to avoid interference of residual taste.

2.11 Stability of the isotonic beverage during storage

Formulation I3, which obtained the highest scores in sensory tests, was evaluated regarding microbiological and physicochemical stability during storage. A new batch of beverages was produced and kept refrigerated at 7 ± 2 °C for 56 days. Beverage samples were collected every 14 days and monitored by osmolality, acidity and pH analyzes and by counting aerobic mesophilic microorganisms, coliforms at 35 °C, molds, and yeasts.

2.12 Statistical analysis

Three batches of each treatment were produced, and all the analyses were performed in triplicate. The data were subjected to the analysis of variance (ANOVA), followed by the Tukey's test (p -value ≤ 0.05). A linear Pearson's correlation also was used to quantify the strength of the relationship between the variables using the software Statistical Package for the Social Sciences (SPSS, 13.0).

3. Results and Discussion

3.1 Physicochemical characterization of isotonic beverages

All the formulations developed present low pH and are considered acidic beverages (pH <4.0), according to Table 2. High acidity is a common characteristic in isotonic beverages (Mettler & Weibel, 2018). The isotonic drink of the Gatorade® brand with passion fruit flavor, for example, has a pH of 3.15 and acidity of 0.32% in citric acid.

Table 2 - Physicochemical characterization of isotonic beverages

Parameters	Isotonic beverages ¹		
	I1	I2	I3
pH	3.93 ± 0.00 ^a	3.76 ± 0.02 ^b	3.43 ± 0.02 ^c
Acidity (% lactic acid)	0.38 ± 0.01 ^c	0.53 ± 0.01 ^b	0.75 ± 0.02 ^a
Ascorbic acid (mg 100mL ⁻¹)	1.36 ± 0.12 ^b	1.67 ± 0.39 ^b	3.03 ± 0.38 ^a
Total soluble solids (° Brix)	7.14 ± 0.05 ^c	7.44 ± 0.05 ^b	8.68 ± 0.06 ^a
Moisture (%)	92.11 ± 0.31 ^a	91.58 ± 0.43 ^a	90.70 ± 0.56 ^b
Osmolality (mOsm Kg ⁻¹)	271.33 ± 2.87 ^c	303.00 ± 2.16 ^b	329.33 ± 1.25 ^a
Fat (%)	0.03 ± 0.01 ^a	0.04 ± 0.00 ^a	0.04 ± 0.01 ^a
Protein (%)	0.34 ± 0.02 ^a	0.37 ± 0.01 ^a	0.20 ± 0.03 ^b
Total sugars (%)	6.78 ± 0.13 ^c	7.28 ± 0.23 ^b	7.98 ± 0.20 ^a
Caloric value (Kcal L ⁻¹)	288.00 ± 2.61 ^c	309.44 ± 6.78 ^b	330.75 ± 4.05 ^a
L*	41.81 ± 0.29 ^a	39.72 ± 0.10 ^b	39.23 ± 0.35 ^b
a	-0.78 ± 0.10 ^b	-1.16 ± 0.03 ^a	-0.08 ± 0.14 ^c
b	12.92 ± 0.23 ^b	12.42 ± 0.15 ^b	14.49 ± 0.43 ^a
C	12.95 ± 0.22 ^b	12.46 ± 0.13 ^b	14.49 ± 0.43 ^a
h°	93.46 ± 0.47 ^b	95.37 ± 0.15 ^a	90.31 ± 0.55 ^c

Values are expressed as mean ($n = 9$) ± SD. The values of the same line following different letters showed significant differences ($p \leq 0.05$) by Tukey's test. ¹ Isotonic beverages - **I1**: 50% RCW, 5% passion fruit pulp, 3% sucrose; **I2**: 50% RCW, 8,5% passion fruit pulp, 3% sucrose; **I3**: 30% RCW, 12% passion fruit pulp, 5% sucrose.

I3 had the highest acidity and the lowest pH value, which is possibly associated with the higher amount of pulp added in this formulation compared to the others. The

passion fruit added to the beverages has a high content of ascorbic acid, the main organic acid of the fruit, reaching 17 mg 100mL⁻¹ in ripe pulp (Silva et al., 2020). Similarly, the ascorbic acid content of the beverages is higher in I3 (3.03 mg 100mL⁻¹), which contains 12% pulp (Table 2).

Total sugars were higher in formulations with more pulp and sucrose, which reflected in an equivalent increase of soluble solids. All formulations contained between 6 and 8% total sugars, which is in accordance with the recommended limits for better absorption of carbohydrates by isotonic beverages (Raizel et al., 2019). In addition, the carbohydrate content is one of the main factors to define the osmolality of the product; therefore, it is important to adjust the initial amount to obtain an isotonic with adequate osmolality (Mettler & Weibel (2018).

The caloric value differed significantly among the isotonic beverages. I1 formulation obtained the lowest energy value compared to I2 and I3, due to its lower carbohydrate content that is represented by total sugars (6.78%). In addition, the low lipid content of the formulations also contributed to a lower caloric value of the isotonic drinks. Although it is a rich source of energy, lipids are not indicated to be consumed during physical activity because they delay gastric emptying, compared to water (Marins, 2011).

As shown in Table 2, the isotonic acquired a color that varies between yellow and green, with hue angle between 90.31 ° and 95.37 °, due to both whey and passion fruit pulp, which have a greenish-yellow color. Higher yellow intensity is observed in I3 (b = 14.49) and higher lightness in I1 (L* = 41.81). The color of the beverages observed in this study was possibly influenced by proteins and riboflavins commonly present in whey (Milovanovic et al., 2020) and by the carotenoids present in passion fruit pulp (Silva et al., 2020).

3.2 Phenolic compounds

Fourteen phenolic compounds were identified and quantified in the isotonic beverages, belonging to four main groups: phenolic acids, flavonols, flavanols, and stilbenes. Ferulic acid was the majority phenolic acid found, and it varied between 1.35 to 1.79 mg L⁻¹. Quercetin-3-β-D-glucoside was the majority compound among the flavonols analyzed, ranging between 0.90 to 1.13 mg L⁻¹. (-)-Epicatechin gallate was the predominant compound of the flavanols class, with 3.57 to 6.13 mg L⁻¹, while *cis*-

resveratrol exhibited the highest concentrations of the stilbenes class and varied between 1.43 to 2.33 mg L⁻¹.

Table 3 - HPLC-DAD phenolic compounds of isotonic beverages

Compounds (mg L ⁻¹) ¹	RT ² (min)	λ ³ (nm)	Isotonic beverages ⁴		
			I1	I2	I3
<i>Phenolic Acids</i>					
Caffeic acid	26.58 ±0.02	320	0.87 ± 0.10 ^b	1.03 ± 0.01 ^a	0.97 ± 0.01 ^a
<i>Trans</i> -Caftaric acid	21.50 ±0.03	320	1.18 ± 0.10 ^b	1.61 ± 0.20 ^a	1.68 ± 0.10 ^a
Chlorogenic acid	25.72 ±0.02	320	0.68 ± 0.10 ^b	0.84 ± 0.34 ^a	0.86 ± 0.01 ^a
<i>ρ</i> -Coumaric acid	36.63 ±0.04	320	0.75 ± 0.10 ^b	0.83 ± 0.10 ^a	0.80 ± 0.10 ^a
Ferulic acid	40.86 ±0.06	320	1.35 ± 0.01 ^b	1.73 ± 0.07 ^a	1.79 ± 0.12 ^a
Gallic acid	10.69 ±0.02	280	0.74 ± 0.03 ^a	0.78 ± 0.13 ^a	0.58 ± 0.01 ^b
<i>Flavonols</i>					
Kaempferol-3- <i>O</i> -glucoside	46.29 ±0.02	360	0.47 ± 0.01 ^b	0.47 ± 0.01 ^b	0.49 ± 0.10 ^a
Quercetin-3-β-D-glucoside	44.00 ±0.02	360	0.90 ± 0.01 ^b	1.13 ± 0.10 ^a	1.09 ± 0.10 ^a
Isohamnetin-3- <i>O</i> -glucoside	46.75 ±0.01	360	0.48 ± 0.01 ^a	0.49 ± 0.01 ^a	0.49 ± 0.10 ^a
Rutin	43.19 ±0.01	360	0.65 ± 0.10 ^c	0.81 ± 0.01 ^b	0.85 ± 0.20 ^a
<i>Flavanols</i>					
(-)-Epicatechin gallate	42.20 ±0.01	280	3.57 ± 0.30 ^b	5.55 ± 0.32 ^a	6.13 ± 0.50 ^a
(-)-Epigallocatechin gallate	32.93 ±0.03	280	2.46 ± 0.30 ^b	3.15 ± 0.05 ^a	3.17 ± 0.40 ^a
<i>Stilbenes</i>					
Piceatannol	44.56 ±0.02	320	0.52 ± 0.01 ^a	0.52 ± 0.01 ^a	0.52 ± 0.01 ^a
<i>Cis</i> -resveratrol	50.44 ±0.01	280	1.43 ± 0.10 ^c	2.10 ± 0.20 ^b	2.33 ± 0.10 ^a

¹ Values are expressed as mean ($n = 3$) ± SD. The values of the same line following different letters showed significant differences ($p \leq 0.05$) by Tukey's test. ² RT = retention time. ³ λ = wavelength. ⁴ Isotonic beverages - **I1**: 50% RCW, 5% passion fruit pulp, 3% sucrose; **I2**: 50% RCW, 8,5% passion fruit pulp, 3% sucrose; **I3**: 30% RCW, 12% passion fruit pulp, 5% sucrose.

Previous studies have reported that fruits of the species *Passiflora cincinnata* Mast. exhibit high content of phenolic acids such as *p*-coumaric, *trans*-caftaric, and ferulic acid (Silva et al., 2020), Chlorogenic acid, quercetin-3- β -D-glucoside, and *cis*-resveratrol (Santos et al., 2021).

In general, the formulations containing 8.5% and 12% passion fruit pulp presented higher concentrations of phenolic compounds than those with 5% pulp. Except for gallic acid, all phenolic acids, as well as quercetin-3- β -D-glucoside, (-)-epicatechin gallate, and (-)-epigallocatechin gallate presented similar concentrations in I2 and I3. In contrast, the content of *cis*-resveratrol, rutin, and kaempferol differed statistically among the formulations, presenting higher amounts in I3 (Table 3).

Despite this, all formulations show high phenolic content compared to commercially available isotonic beverages, which are generally produced with artificial

flavors and aromas, and are not sources of bioactive compounds (Hong, Mansour, Klarich, Copp, & Bloem 2016).

(-)-Epicatechin gallate and (-)-epigallocatechin gallate, the main phenolic compounds quantified in isotonic beverages, are potent natural antioxidants that contribute to beneficial therapeutic effects such as anti-inflammatory, antimicrobial, and cardioprotective activities (Prakash, Basavaraj, & Murthy, 2019), assist in body fat reduction, prevention and treatment of obesity and associated diseases (Cremonini et al., 2020), and may prevent cancer (Aggarwal et al., 2020).

The addition of passion fruit 'BRS Sertão Forte' to the developed beverages contributed to increasing antioxidant activity *in vitro*, due to their higher composition of phenolic compounds and ascorbic acid.

3.3 Antioxidant capacity

Fig. 1 shows the results obtained for antioxidant capacity as verified using the different tests (ORAC, FRAP, and DPPH).

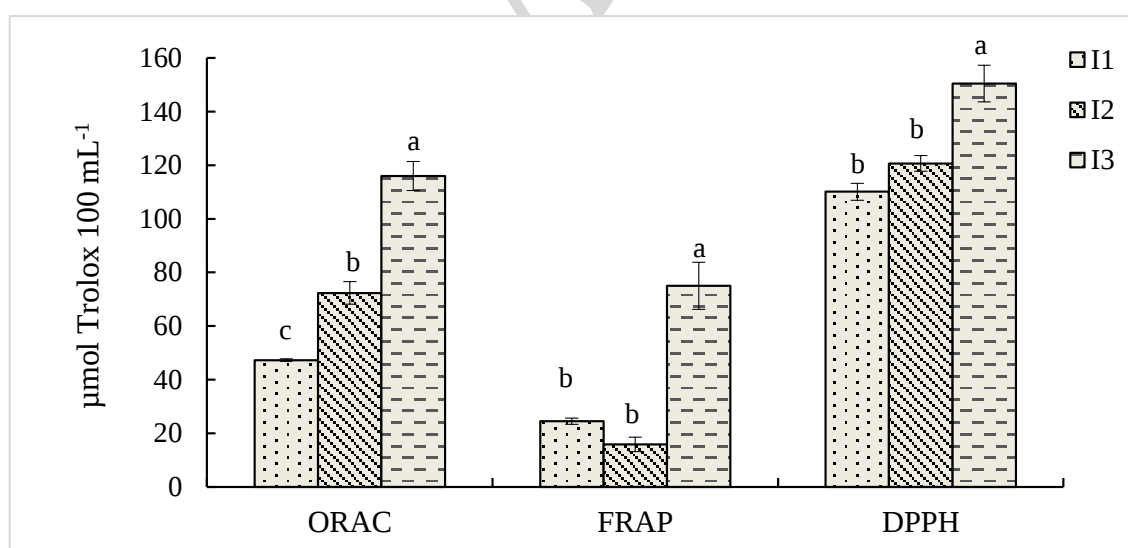


Fig. 1 - Antioxidant capacity by ORAC, FRAP and DPPH methods of isotonic beverage. Isotonic beverages - I1: 50% RCW, 5% passion fruit pulp, 3% sucrose; I2: 50% RCW, 8.5% passion fruit pulp, 3% sucrose; I3: 30% RCW, 12% passion fruit pulp, 5% sucrose. Grouped columns followed by the different letters showed significant differences ($p \leq 0.05$) by Tukey's test

In all assays, the antioxidant capacity was significantly higher in I3 than in I1 and I2, which may be related to the amount of pulp added to the formulations. It has already been demonstrated that passion fruit 'BRS Sertão Forte' has a high content of ascorbic

acid, carotenoids, and phenolic compounds, which contributes strongly to its antioxidant activity of 609.08 μM Trolox 100 g^{-1} of ripe pulp (Silva et al., 2020). Conversely, the beverages with a higher proportion of RCW showed lower antioxidant activity, as occurs in both I1 and I2 formulations that contain 50% RCW.

The results obtained in this study demonstrate that there are strong to very strong and positive correlations ($r_s > 0.70$) between antioxidant activity by ORAC and DPPH, with ascorbic acid and with the compounds ferulic acid, chlorogenic acid, caftaric acid, kaempferol, rutin, (-)-epicatechin gallate, and *cis*-resveratrol (Table S2).

In recent years, whey has received considerable attention due to its antioxidant bioactivity, which is related to its proteins (Zhao & Ashaolu, 2020). However, some studies reported that phenolic compounds may interact with proteins, forming soluble or insoluble complexes, which can affect the antioxidant capacity, either by increasing or decreasing this property (He, Yuan, Zeng, Tao, & Chen, 2015; Lamothe, Azimy, Bazinet, Couillard, & Britten, 2014). Therefore, it is possible to consider that the antioxidant capacity of I1 and I2 were affected by the proportion of RCW used, which resulted in a higher concentration of proteins as shown in Table 2 (0.34% and 0.37%, respectively), and its consequent interaction with phenolic compounds present in beverages.

Nevertheless, all developed formulations show higher antioxidant activity than commercially available isotonic beverages. According to Hong et al., (2016), sports drinks of different commercial brands such as Gatorade® and Powerade® present low antioxidant activity, with an average content of 0.05 μmol TEAC 100 ml^{-1} , which is likely due to the absence of vitamin C and phenolic compounds in these beverages. Therefore, the beverages produced in this study provide important components for athletes' diets.

3.4 Mineral bioaccessibility and simulated digestive fractions

The total mineral content of the beverages, in descending order, is represented by the elements K, Na, Ca, and Mg, as shown in Table 4. These minerals form the electrolyte pool that strongly influence osmolality, which is the most important component of isotonic beverages.

Beverages formulated with 50% RCW exhibited higher total mineral content. I1 presented higher concentrations of K and Na, while I1 and I2 showed similar results for Ca and Mg, with higher concentrations than those found in I3 (Table 4). These results are

associated with the mineral composition of RCW, which exhibits high content of these elements (Table S1).

Table 4 - Mineral content and in vitro bioaccessibility of isotonic beverage

Element	Isotonic beverages ¹	Concentration (mg L ⁻¹) ²		Bioaccessibility (%)
		Total	Bioaccessible fraction	
K	I1	1482.80 ± 1.82 ^{aA}	434.63 ± 6.53 ^{bB}	36.58
	I2	1357.63 ± 4.46 ^{bA}	424.08 ± 17.89 ^{bB}	31.24
	I3	1138.30 ± 10.05 ^{cA}	781.38 ± 13.43 ^{aB}	68.64
Na	I1	675.42 ± 22.55 ^{aA}	475.42 ± 21.77 ^{aB}	70.39
	I2	470.69 ± 23.32 ^{bA}	204.78 ± 13.78 ^{bB}	43.31
	I3	478.23 ± 21.04 ^{bA}	207.51 ± 15.11 ^{bB}	43.39
Ca	I1	97.65 ± 2.02 ^a	n.d.	-
	I2	88.21 ± 1.33 ^a	n.d.	-
	I3	47.47 ± 0.01 ^b	n.d.	-
Mg	I1	32.69 ± 1.26 ^{aA}	13.39 ± 0.39 ^{aB}	40.96
	I2	33.82 ± 0.10 ^{aA}	12.18 ± 0.21 ^{aB}	36.01
	I3	30.56 ± 0.24 ^{bA}	12.77 ± 0.25 ^{aB}	41.79

¹ Isotonic beverages - **I1**: 50% RCW, 5% passion fruit pulp, 3% sucrose; **I2**: 50% RCW, 8,5% passion fruit pulp, 3% sucrose; **I3**: 30% RCW, 12% passion fruit pulp, 5% sucrose. ² Values are expressed as mean ($n = 3$) ± SD. The values of each mineral followed by different lowercase letters in the same column and different uppercase letters in the same line showed significant differences ($p \leq 0.05$) by Tukey's test. n.d = Not detected.

Ferreira et al., (2020) found lower concentrations of K compared to I1 and I2, with 1219 mg L⁻¹, and higher values of Na compared to I2 and I3, with 608.4 mg L⁻¹ in an isotonic beverage made with whey permeate and jabuticaba peel. Becker et al. (2021) also reported lower concentrations of K (623.44 mg L⁻¹) and Na (663.38 mg L⁻¹), and higher concentrations of Ca (341 mg L⁻¹) and Mg (62 mg L⁻¹) in an isotonic beverage made with whey permeate and lemon flavor. However, these studies did not report the bioavailability of the minerals present in these beverages. Bioaccessibility analysis can help to understand the influence of the ingredients that make up sports drinks on the absorption of their nutrients.

In the present study, it was observed through *in vitro* tests that only a part of the mineral content of the formulated isotonic beverages is bioaccessible, with values between 31.24% and 70.39% of bioaccessibility (Table 4).

The bioaccessibility of K was higher in I3 (68.64%), while Na showed higher bioaccessibility in I1 (70.39%), and values above 43% in the other formulations. Concerning the Mg, a similar percentage of bioaccessibility was obtained among the

formulations, reaching values above 36%, and Ca was not detected in the bioaccessible fractions.

Na in sports drinks stimulates the thirst mechanism, which makes athletes increase the fluid intake enhancing hydration and physical performance, as well as contributing to maintaining the osmotic pressure of body fluids. Its content should be between 460 mg L⁻¹ and 1150 mg L⁻¹ (Schleh & Dumke, 2018; Brazil, 2018a). Although all isotonic formulations showed adequate Na total concentrations, only I1 obtained adequate Na content in its bioaccessible fraction.

On the other hand, K assists in muscle contraction, in addition to maintaining electrolyte balance and regulating blood pressure. Its combination with Na in sports drinks may prevent muscle cramps, a crucial aspect to improve performance (Kreider et al., 2010). Recommendations on the content of K in sports drinks are controversial in the literature and the current Brazilian legislation does not stipulate an adequate limit (Brasil, 2018a).

Although Na and K are the electrolytes lost in large amounts in sweat, the presence of Mg and Ca in sports drinks is also important to assist in muscle contractions, ensuring optimal muscle performance (Kreider et al., 2010).

Regarding Ca, the solubility of a particular form of this element depends mainly on the environmental pH, often reaching maximum solubility in acidic conditions. Molecular interactions between Ca and other compounds such as phosphates and carbonates, often used in *in vitro* digestion protocols, may occur during the intestinal digestion step, where the pH is nearly neutral (Minekus et al., 2014; Lorieau et al. 2018). Thus, the addition of carbonate in the form of NaHCO₃ during the digestion process may have affected the analysis of this element. Moreover, Lorieau et al. (2018) reported that during *in vitro* digestion calcium has a better bioaccessibility in a water medium than in dairy matrices, which indicates the need for supplementation if these conditions are maintained in the human digestive tract.

3.5 Sensory analysis

The consumer acceptability of the isotonic beverages showed average scores above 6 (liked moderately) in overall acceptability, which indicates a good sensory acceptance for all the formulations. The highest scores were observed in I3, reaching 7.8 (Fig. 2. A).

The amount of sucrose (5%) and passion fruit pulp (12%) added to I3 may have contributed to its greater sensory acceptance, compared to the other formulations. Although the ideal concentrations of sugars in isotonic drinks are lower than in other beverages such as juices, nectars, and soft drinks (Meyer, Timmons, Wilk, & Leites, 2019), Brazilian consumers generally prefer drinks with higher sweetness (Lima et al., 2021).

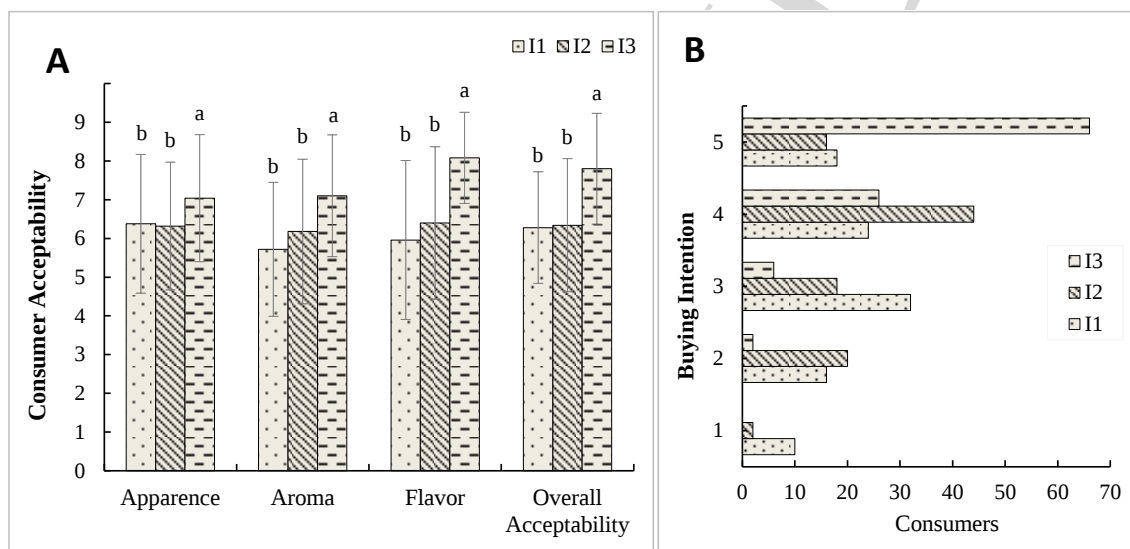


Fig. 2 - Results of the consumer test: (A) Consumer acceptability of the appearance, aroma, flavor and overall acceptability of the isotonic beverages, using the nine-point hedonic scale (1 = disliked extremely; 5 = neither like nor disliked; 9 = liked extremely). (B) Purchase intention of the isotonic beverages: 1 = certainly would not buy, 2 = possibly would not buy, 3 = have doubts if I would buy, 4 = possibly would buy and 5 = certainly would buy". Values are expressed as mean ($n = 50$) $\pm$ SD. Grouped columns followed by the different letters showed significant differences ($p \leq 0.05$) by the Tukey means test. Isotonic beverages: I1 = 50% RCW, 5% passion fruit pulp, 3% sucrose; I2 = 50% RCW, 8.5% passion fruit pulp, 3% sucrose; I3 = 30% RCW, 12% passion fruit pulp, 5% sucrose.

The amount of pulp added to I3 intensified the aroma of the beverage, and the amount of RCW also provided the greater intensity of the yellow color (Table 2), which certainly contributed to its better sensory acceptance. For many food product categories, color contributes to a product's purchase decision because it conveys information to consumers about its sensory properties (Milovanoivic et al., 2020).

In the purchase intention test, a total of 42% and 60% of the participants demonstrated that they would probably or certainly purchase I1 and I2 formulation, respectively, while over 90% of the participants indicated that they would probably or certainly purchase formulation I3 if these beverages were on sale (Fig. 2. B).

It is important to consider that the consumer test was applied immediately after the end of an athletes' training session, reproducing the real sensations of thirst and physical exhaustion. This allowed a sensory evaluation of the beverages with greater specificity, obtaining more realistic information about the acceptance of the beverages after physical activity.

3.6 Stability of the isotonic beverage during storage

The isotonic beverage containing 30% RCW and 12% passion fruit pulp (I3), which was identified as the most accepted in the sensory acceptance test, was evaluated regarding physicochemical and microbiological stability during storage.

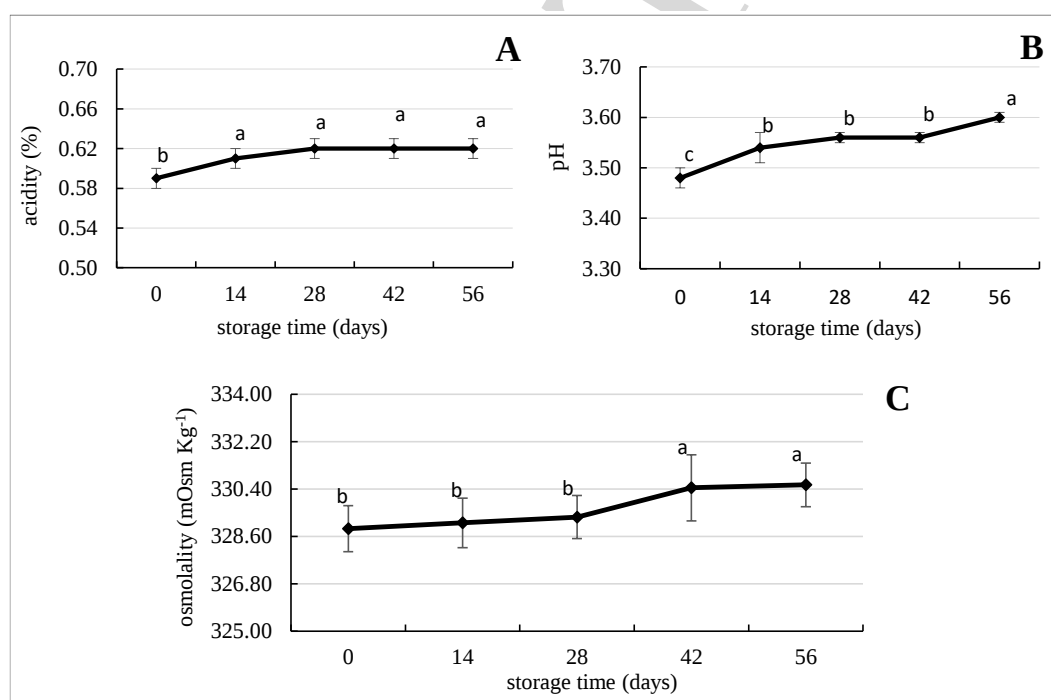


Fig. 3 - Physicochemical parameters of the isotonic beverage (I3) stored at 7 ± 2 °C: (A) Total acidity (% lactic acid); (B) pH; (C) Osmolality (mOsm Kg⁻¹). Values are expressed as mean ($n = 9$) $\pm$ SD. The values in the same line followed by different letters showed significant differences ($p \leq 0.05$) by Tukey's test.

Similar behavior was observed for pH and acidity of the beverage during 42 days of storage (Fig. 3). The acidity increased in the first 14 days and then remained stable until the end of the storage period. The pH was constant from 14 to 42 days and increased again later during storage.

As for the osmolality of the drinks, the results remained stable until 28 days of storage, with values around 329 mOsm Kg⁻¹. After this time, the samples showed a significant increase in osmotic concentration, reaching 330.56 mOsm Kg⁻¹ in the last evaluated time (Fig. 3). Despite the increase, the monitored samples remained with osmolality similar to the limit established for this type of product, which is 330 mOsm Kg⁻¹ (Brazil, 2018a).

According to Mettler & Weibel (2018) osmolality, pH and titratable acidity are just some of the selected aspects of sports drinks among many others. Although gastric emptying and fluid absorption can be influenced by the osmolality of the beverage after consumption, other factors may be even more significant, such as the carbohydrate content in the beverage.

The microbiological quality control of the drinks during storage showed satisfactory results in the aerobic mesophilic microorganisms counts (10¹ CFU mL⁻¹); coliforms at 35 °C (3.0 MPN mL⁻¹), and molds and yeasts counts (10² CFU mL⁻¹), according to maximum established limits by the Brazilian Normative Instructions n°. 16/2005 for sterilized milk drink (Brazil, 2005) and n°. 49/2018 for fruit juices and pulps (Brazil, 2018b), as there is no specific legislation regarding the microbiological characteristics of isotonic drinks in the country.

The microbiological stability observed in the samples may be related to the low pH values obtained during the evaluation period (3.48 - 3.60). High-acid foods inhibit the proliferation of spoilage and pathogenic bacteria (Preetha & Narayanan, 2020). Molds, yeasts, lactic, and acetic acid bacteria may grow in the product. Nevertheless, these groups are usually destroyed by heat treatment (Valadão, Shimoda, Jory, Fratassi, & Petrus, 2019). In this way, the combination of the high acidity and pasteurization favored the preservation of the final product during the evaluated period.

Gironés-Vilaplana et al., (2016) evaluated the effect of the heat treatment on the quality of an isotonic drink with lemon juice and maqui berry, added with chemical preservatives, and observed that the mild treatment applied to the drink (80 °C), followed by refrigeration at 7 °C were ideal to prevent microbial growth by maintaining the quality and bioactivity of the product during 56 days of storage. In the same way, Fontes, Alves, & Minim (2015) also evaluated the stability of isotonic beverages produced with permeate from ultrafiltration of milk and addition of chemical preservatives, subjected to slow pasteurization (65 °C 30 min⁻¹) and stored at 7 °C and 25 °C for 30 days with the

physicochemical and microbiological characteristics of the drinks preserved throughout the storage period and at both temperatures.

Therefore, it is important to highlight that the drink developed in this study presented adequate physicochemical characteristics and microbiological safety during 56 days of storage at 7 °C, even without the addition of chemical preservatives in the formulation.

4. Conclusions

The isotonic beverages developed are innovative alternatives for the market of supplements for athletes, combining the use of a by-product generated in large quantities in the dairy industries and a new variety of passion fruit from Caatinga biome hitherto little explored economically.

All the formulations presented good sensory acceptance and are good sources of phenolic compounds such as epicatechin gallate, epigallocatechin gallate, and *cis*-resveratrol. I3 showed higher ascorbic acid content and antioxidant activity obtained the best scores in the sensory tests and maintained its physicochemical stability and microbiological safety during the storage period, even without the addition of chemical preservatives. I1 and I3 presented high bioaccessibility of the minerals K, Na, and Mg compared to I2.

The new passion fruit cultivar combined with RCW proved to be a promising alternative to obtain isotonic beverages with high antioxidant activity, phenolic compounds content, and bioaccessible minerals. Further studies are needed to verify *in vivo* the influence of the consumption of these beverages on hydroelectrolytic replenishment and sports performance.

CRediT authorship contribution statement

Graciete de Souza Silva: Conceptualization. Methodology. Investigation. Formal Analysis. Writing - Original Draft; **Clívia Danúbia Pinho da Costa Castro:** Methodology. Conceptualization. Writing - Review & Editing; **Graciele da Silva Campelo Borges:** Supervision. Methodology. Writing - Review & Editing; **Aline Telles Biasoto Marques:** Writing - Review & Editing. Resources; **Sérgio Tonetto de Freitas:** Writing - Review & Editing. Conceptualization; **Saulo de Tarso Aidar:** Writing - Review & Editing. Conceptualization; Ana Cecília Poloni Rybka: Writing - Review &

Editing. Conceptualization; Haíssa Roberta Cardarelli: Supervision. Project Administration. Conceptualization. Methodology. Writing - Review & Editing. Resources.

Declaration of Competing Interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper

Acknowledgment

The authors thank to the Brazilian Agricultural Research Corporation (Embrapa) and Bem Diverso for their financial support (project BRA/14/G33 Embrapa/ PNUD/GEF) for their financial support to the accomplishment of the work, and CAPES / FAPESQ for providing a scholarship to the first author.

SUPPLEMENTARY MATERIAL

Table S1 - Physicochemical composition, mineral profile and antioxidant activity of Ricotta cheese whey

Parameters	Composition
<i>Physicochemical parameters</i>	
Total soluble solids (°Brix)	6.93 ± 0.12
pH	6.12 ± 0.03
Acidity (%) *	0.17 ± 0.00
Protein (%)	0.65 ± 0.07
Lactose (%)	4.68 ± 0.03
Fat (%)	0.63 ± 0.19
Total dry extract (%)	6.61 ± 0.09
Osmolality (mOsm Kg ⁻¹)	344.67 ± 1.70
<i>Minerals</i>	
K (mg L ⁻¹)	2274.15 ± 30,04
Na (mg L ⁻¹)	691.19 ± 7,58
Ca (mg L ⁻¹)	918.53 ± 21,67
Mg (mg L ⁻¹)	230.32 ± 10,70
Zn (mg L ⁻¹)	11.08 ± 0,86
Fe (mg L ⁻¹)	29.09 ± 5,34
Mn (mg L ⁻¹)	n.d.
Cu (mg L ⁻¹)	n.d.
<i>Antioxidant Activity</i>	
ORAC (μmol TEAC 100 mL ⁻¹)	71.81 ±1.53
FRAP (μmol TEAC 100 mL ⁻¹)	45.02 ±5.23
DPPH (μmol TEAC 100 mL ⁻¹)	10.32 ±2.06

All results are expressed as mean ($n = 3$) ± SD. * Total acidity expressed as lactic acid percentage.

Table S2 - Spearman correlation between protein content, ascorbic acid and phenolic compounds with in vitro antioxidant activity of the isotonic beverages measured by the ORAC, FRAP and DPPH assays

	ORAC		FRAP		DPPH	
	Spearman r_s^*	p -values	Spearman r_s	p -values	Spearman r_s	p -values
Protein	-0.54	0.14	-0.77	0.02	-0.50	0.17
Ascorbic acid	0.91	0.00	0.43	0.25	0.86	0.00
Caffeic acid	0.49	0.19	-0.51	0.16	0.38	0.32
Caftaric acid	0.95	0.00	0.42	0.27	0.88	0.00
Chlorogenic acid	0.75	0.03	0.02	0.98	0.70	0.05
ρ -Coumaric acid	0.45	0.23	-0.34	0.36	0.54	0.14
Ferulic acid	0.97	0.00	0.47	0.20	0.89	0.00
Gallic acid	-0.44	0.24	-0.97	0.00	-0.50	0.18
Kaempferol-3- <i>O</i> -glucoside	0.92	0.00	0.53	0.16	0.84	0.01
Quercetin-3- β -D-glucoside	0.45	0.22	-0.47	0.20	0.45	0.22
Isohamnetin-3- <i>O</i> -glucoside	0.41	0.31	-0.04	0.92	0.36	0.40
Rutin	0.92	0.00	0.45	0.23	0.92	0.00
(-)-Epicatechin gallate	0.88	0.00	0.49	0.19	0.96	0.00
(-)-Epigallocatechin gallate	0.62	0.08	0.14	0.73	0.84	0.01
Piceatannol	0.00	1.00	0.00	1.00	0.00	1.00
<i>Cis</i> -resveratrol	0.84	0.01	0.45	0.22	0.94	0.00

* Spearman correlation coefficient (r_s): 0.00–0.10 = very weak; 0.10–0.39 = weak; 0.40–0.69 = moderate; 0.70–0.89 = strong; 0.90–1.0 = very strong (Schober, Boer & Schwarte, 2018). The very strong correlations are presented in bold type.

References

- Abella, M., Leano, M. L., Malig, J., Martin, G., Cruz, C. D., & De Leon, A. (2016). Formulation of a Sports Drink from Fermented Whey. *CLSU International Journal of Science & Technology*. 1(1), 1-10. <https://doi.org/10.22137/ijst.2016.v1n1.01>.
- Aggarwal, V., Tuli, H. S., Tania, M., Srivastava, S., Ritzer, E. E., Pandey, A., ... & Bishayee, A. (2020, May). Molecular mechanisms of action of epigallocatechin gallate in cancer: Recent trends and advancement. In *Seminars in cancer biology*. Academic Press. <https://doi-org.ez15.periodicos.capes.gov.br/10.1016/j.semcancer.2020.05.011>.
- Ali, A., Mehta, S., Starck, C., Wong, M., O'Brien, W. J., Haswell, C., ... & Ahmed Nasef, N. (2021). Effect of SunGold Kiwifruit and Vitamin C Consumption on Ameliorating Exercise-Induced Stress Response in Women. *Molecular Nutrition & Food Research*, 65(10), 2001219. <https://doi.org/10.1002/mnfr.202001219>.
- American Public Health Association – APHA (2015). *Compendium of methods for the microbiological examination of foods* \ Salfinger Y, Tortorello L. Editorial Board. <https://doi.org/10.2105/MBEF.0222.001>.
- Association of Official Analytical Chemists – AOAC (2016). *Official Methods of Analysis - AOAC International*. 20th Ed. Revision. Washington, DC. ISBN n. 0-935584-87-0. 3172p.
- Becker, A. F., Rebelatto, E., Sabadin, K., Becker, J., Steffens, J., Bagatini, L., ... & Rigo, E. (2021). Evaluation of whey permeate obtained through nanofiltration for the formulation sports drinks. *Brazilian Journal of Development*, 7(2), 18753-18769. <https://doi.org/10.34117/bjdv7n2-493>.
- Berry, C. W., Wolf, S. T., Murray, B., & Kenney, W. L. (2020). Hydration Efficacy of a Milk Permeate-Based Oral Hydration Solution. *Nutrients*, 12(5), 1502. <https://doi.org/10.3390/nu12051502>.
- Bligh, E. G., & Dyer, W. J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37(8), 911-917.
- Brazil. Ministério da Saúde/ Agência Nacional de Vigilância Sanitária. (2018a). Instrução Normativa 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, Brasília, DF. https://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/34380639/do1-2018-07-27-instrucao-normativa-in-n-28-de-26-de-julho-de-2018-34380550. Accessed June 9, 2021
- Brazil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (2018b). Instrução Normativa nº49 de 26 de setembro de 2018. Padrões de Identidade e Qualidade de Suco e Polpa de Fruta. Diário Oficial da União, Brasília, DF. <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/legislacao-1/biblioteca-de-normas-vinhos-e-bebidas/instrucao-normativa-no-49-de-26-de-setembro-de-2018.pdf/view>. Accessed June 9, 2021
- Brazil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. (2005). Instrução Normativa nº16 de 23 de agosto de 2005. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebida Láctea.

Diário Oficial da União, Brasília, DF. https://www.normasbrasil.com.br/norma/instrucao-normativa-16-2005_75591.htm. Accessed June 9, 2021

Costa, R. R., Rodrigues, A. A. M., De Vasconcelos, V. A. F., Costa, J. P. D., & De Lima, M. A. C. (2020). Trellis systems, rootstocks and season influence on the phenolic composition of 'Chenin Blanc' grape. *Scientia Agricola*, 77(3). <https://doi.org/10.1590/1678-992x-2018-0207>.

Cremonini, E., Iglesias, D. E., Kang, J., Lombardo, G. E., Mostofinejad, Z., Wang, Z., ... & Oteiza, P. I. (2020). (-)-Epicatechin and the comorbidities of obesity. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 108505. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2020.108505>.

Dantas, A. B., Jesus, V. F., Silva, R., Almada, C. N., Esmerino, E. A., Cappato, L. P., ... & Cruz, A. G. (2016). Manufacture of probiotic Minas Frescal cheese with *Lactobacillus casei* Zhang. *Journal of Dairy Science*, 99(1), 18-30. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9880>.

Ferreira, P. R., Marins, J.C.B., de Oliveira, L.L., Bastos, D.S. S., Júnior, D.T.S., da Silva, C.D., & Fontes, E. A. F. (2020). Beverage based on whey permeate with phenolic extract of jabuticaba peel: A pilot study on effects on muscle and oxidative stress in trained individuals. *Journal of Functional Foods*, 65, 103749. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.103749>.

Fontes, E.A.F., Alves, Y.P.C., Fontes, P.R., & Minim, V.P.R. (2015). Bebida eletrolítica a base de permeado da ultrafiltração de leite: avaliação física, química e microbiológica durante o armazenamento. *Ciência Rural*. 45(2), 342-348. <http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20131432>.

Gironés-Vilaplana, A., Huertas, J.P., Moreno, D.A., Periago, P.M., & García-Viguera, C. (2016). Quality and microbial safety evaluation of new isotonic beverages upon thermal treatments. *Food Chemistry*, 194, 455-462. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.08.011>.

He, Z., Yuan, B., Zeng, M., Tao, G., & Chen, J. (2015). Effect of simulated processing on the antioxidant capacity and in vitro protein digestion of fruit juice-milk beverage model systems. *Food chemistry*, 175, 457-464. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.12.007>.

Hong, M. Y., Mansour, L., Klarich, D. S., Copp, L., & Bloem, K. (2016). Comparison of antioxidant capacity of commonly consumed youth beverages in the United States. *International Journal of Food Science & Technology*, 51(6), 1409-1416. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13107>.

Instituto Adolfo Lutz - IAL (2008). Métodos físico-químicos para análise de alimentos /coordenadores Odair Zenebon, Neus Sadocco Pascuet e Paulo Tiglea - São Paulo. http://www.ial.sp.gov.br/resources/editorinplace/ial/2016_3_19/analisedealimentosial_2008.pdf. Accessed June 9, 2021.

Kreider, R. B., Wilborn, C. D., Taylor, L., Campbell, B., Almada, A. L., Collins, R., ... & Antonio, J. (2010). ISSN exercise & sport nutrition review: research & recommendations. *Journal of the international society of sports nutrition*, 7(7), 1-43. <https://doi.org/10.1186/1550-2783-7-7>.

Lamothe, S., Azimy, N., Bazinet, L., Couillard, C., & Britten, M. (2014). Interaction of green tea polyphenols with dairy matrices in a simulated gastrointestinal environment. *Food & function*, 5(10), 2621-2631. <https://doi.org/10.1039/c4fo00203b>.

Lima, R.S., Medeiros, A.C., Pereira, C.T.M., Santos, G.F., Quadros, D.A., Campos, M. F.S., & Bolini, H.M.A. (2021). Impact of sweetness on the sensory acceptance of passion fruit nectar in

Brazilian geographic regions. *International Journal of Food Science & Technology*. 56, 3055–3065. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14949>

Lorieau, L., Le Roux, L., Gaucheron, F., Ligneul, A., Hazart, E., Dupont, D., & Floury, J. (2018). Bioaccessibility of four calcium sources in different whey-based dairy matrices assessed by in vitro digestion. *Food chemistry*, 245, 454-462. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.10.108>.

Macfie, H. J., Bratchell, N., Greenhoff, K., & Vallis, L. (1989). Designs to balance the effect of order of presentation and first-order carry-over effects in hall tests. *Journal of Sensory Studies*, 4(2), 129–148.

Marapana, R.A.U.J., Chandrasekara, C.M.K.V., & Aponso, M. M. W. (2017). Nutrient fortified king coconut water as an isotonic thirst quenching beverage for sports men and women. *International Journal of Chemical Studies*. E-ISSN: 2321-4902. 5(5), 1494-1498. <http://dr.lib.sjp.ac.lk/handle/123456789/7778>.

Marins, J.C.B. (2011). *Hidratação na atividade física e no esporte: equilíbrio hidromineral*. Várzea Paulista: Fontoura. ISBN: 9788587114822. 304 p.

Meilgaard, M., Civille, G. V., & Carr, B. T. (2006). *Sensory evaluation techniques* (5 ed.). Boca Raton: CRC Press.

Mettler, S., & Weibel, E. (2018). Osmolality, pH, and titratable acidity of sports drinks on the Swiss market. *Swiss Sports & Exercise Medicine*, 66(4), 56-63. <https://doi.org/10.34045/SSEM/2018/30>.

Meyer, F., Timmons, B. W., Wilk, B., & Leites, G. T. (2019). Water: hydration and sports drink. In *Nutrition and Enhanced Sports Performance* (pp. 545-554). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813922-6.00046-1>.

Milovanovic, B., Djekic, I., Miocinovic, J., Djordjevic, V., Lorenzo, J. M., Barba, F. J., ... & Tomasevic, I. (2020). What Is the Color of Milk and Dairy Products and How Is It Measured? *Foods*, 9(11), 1629. <https://doi.org/10.3390/foods9111629>.

Minekus, M., Alming, M., Alvito, P., Ballance, S., Bohn, T. O. R. S. T. E. N., Bourlieu, C., ... & Brodtkorb, A. (2014). A standardised static in vitro digestion method suitable for food—an international consensus. *Food & Function*, 5(6), 1113-1124. <https://doi.org/10.1039/C3FO60702J>.

Monti, L., Donati, E., Zambrini, A. V., & Contarini, G. (2018). Application of membrane technologies to bovine Ricotta cheese exhausted whey (scotta). *International Dairy Journal*, 85, 121-128. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2018.05.007>.

Natividade, M. M. P., Pereira, G. E., Correia, L. C., Souza, S. V. C., & Lima, L. C. O. (2013). Simultaneous analysis of 25 phenolic compounds in grape juice for HPLC: Method validation and characterization of São Francisco Valley samples. *Microchemical Journal*, 110, 665–674. <http://dx.doi.org/10.1016/j.microc.2013.08.010>.

Porfírio, M.C.P., Gonçalves, M.S., Borges, M.V., Leite, C.X.D.S., Santos, M.R.C., Silva, A.G.D., ... & SILVA, M.V.D. (2019). Development of isotonic beverage with functional attributes based on extract of *Myrciaria jabuticaba* (Vell) Berg. *LWT - Food Science and Technology*. 40(3), 614-620. <https://doi.org/10.1590/fst.14319>.

- Prakash, M., Basavaraj, B. V., & Murthy, K. C. (2019). Biological functions of epicatechin: Plant cell to human cell health. *Journal of functional foods*, 52, 14-24. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.10.021>.
- Preetha, S. S., & Narayanan, R. (2020). Factors Influencing the Development of Microbes in Food. *Humanities*, 7(3), 57-77. <https://doi.org/10.34293/sijash.v7i3.473>.
- Raho, S., Carofiglio, V. E., Montemurro, M., Miceli, V., Centrone, D., Stufano, P., ... & Rizzello, C. G. (2020). Production of the Polyhydroxyalkanoate PHBV from ricotta cheese exhausted whey by *Haloferax mediterranei* fermentation. *Foods*, 9(10), 1459. <https://doi.org/10.3390/foods9101459>.
- Raizel, R., Coqueiro, A. Y., Bonvini, A., & Tirapegui, J. (2019). Sports and energy drinks: Aspects to consider. In *Sports and Energy Drinks* (pp. 1-37). Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815851-7.00001-2>.
- Rufino, M. S. M., Alves, R. E., Brito, E. S., Morais, S. M., Sampaio, C. G., Pérez-Jiménez, J., & Saura-Calixto, F. D. (2006). Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pelo Método de Redução do Ferro (FRAP). Comunicado Técnico 125, on-line, ISSN 1679-6535. <https://www.embrapa.br/agroindustria-tropical/busca-de-publicacoes/-/publicacao/664098/metodologia-cientifica-determinacao-da-atividade-antioxidante-total-em-frutas-pelo-metodo-de-reducao-do-ferro-frap>. Accessed June 9, 2021
- Rufino, M. S. M., Fernandes, F. A. N., Alves, R. E., & Brito, E. S. (2009). Free radical-scavenging behaviour of some north-east Brazilian fruits in a DPPH_ system. *Food Chemistry*. 114 (2), 693–695. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.098>.
- Russo, I., Camões-Costa, V., Gaskell, S. K., Porter, J., Burke, L., & Costa, R. J. (2019). Systematic literature review: The effect of dairy milk on markers of recovery optimisation in response to endurance exercise. *International Journal of Sports Science*, 69-85. <https://doi.org/10.5923/j.sports.20190904.01>.
- Santos, D. I., Saraiva, J. M. A., Vicente, A. A., & Moldão-Martins, M. (2019). Methods for determining bioavailability and bioaccessibility of bioactive compounds and nutrients. In *Innovative thermal and non-thermal processing, bioaccessibility and bioavailability of nutrients and bioactive compounds* (pp. 23-54). Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814174-8.00002-0>.
- Santos, T. B., de Araújo, F. P., Neto, A. F., de Freitas, S. T., de Souza Araújo, J., de Oliveira Vilar, S. B., ... & Lima, M. S. (2021). Phytochemical Compounds and Antioxidant Activity of the Pulp of Two Brazilian Passion Fruit Species: *Passiflora Cincinnata* Mast. and *Passiflora Edulis* Sims. *International Journal of Fruit Science*, 22, 1-15. <https://doi.org/10.1080/15538362.2021.1872050>.
- Schleh, M. W., & Dumke, C. L. (2018). Comparison of sports drink versus oral rehydration solution during exercise in the heat. *Wilderness & environmental medicine*, 29(2), 185-193. <https://doi.org/10.1016/j.wem.2018.01.005>.
- Silva, G.S., Borges, G. D. S. C., da Costa Castro, C. D. P., de Tarso Aida, S., Marques, A. T. B., de Freitas, S. T., ... & Cardarelli, H. R. (2020). Physicochemical quality, bioactive compounds and in vitro antioxidant activity of a new variety of passion fruit cv. BRS Sertão Forte (*Passiflora*

cinnata Mast.) from Brazilian Semiarid region. *Scientia Horticulturae*, 272, 109595. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109595>.

Silva, J. G. S., Rebellato, A. P., Greiner, R., & Pallone, J. A. L. (2017). Bioaccessibility of calcium, iron and magnesium in residues of citrus and characterization of macronutrients. *Food research international*, 97, 162-169. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.04.005>.

Tedesco, M.J., Gianello, C., Bissani, C.A., Bohnen, H., & Volkweiss, S.J. (1995). Análises de solo, plantas e outros materiais. Boletim Técnico nº 5. 174. Porto Alegre: UFRGS.

Tomczyk, M., Zagula, G., & Dżugan, M. (2020). A simple method of enrichment of honey powder with phytochemicals and its potential application in isotonic drink industry. *LWT - Food Science and Technology*. 125, 109204. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109204>.

Toscano, L. D. L. T., Silva, A. S., de França, A. C. L., de Sousa, B. R. V., de Almeida Filho, E. J. B., da Silveira Costa, M., ... & Gonçalves, M. D. C. R. (2020). A single dose of purple grape juice improves physical performance and antioxidant activity in runners: a randomized, crossover, double-blind, placebo study. *European Journal of Nutrition*, 59(1), 2997-3007. <https://doi.org/10.1007/s00394-019-02139-6>.

Valadão, N. K.; Andrade, M. G. D.; Jory, J. C.; Gallo, F. A.; Petrus, R. R. (2016). Development of a Ricotta Cheese Whey-based Sports Drink. *Journal Advances in Dairy Research*. 4(3), 1-6. 2016. <https://doi.org/10.4172/2329-888X.1000156>.

Valadão, N. K., Shimoda, S. Y., Jory, J. C., Fratassi, G. C., & Petrus, R. R. (2019). Stability of a dairy-based electrolyte replenishment beverage. *Food Science and Technology*, 39(4), 824-829. <https://doi.org/10.1590/fst.09018>.

Watt, B., & Merrill, A.L. (1963). *Composition of foods: Raw, processed, prepared*. Consumer and Food Economics Research Division/ Agricultural, Washington, DC. ASIN: B0007EIBB4. 189p.

Zhao, C., & Ashaolu, T. J. (2020). Bioactivity and safety of whey peptides. *LWT - Food Science and Technology*. 109935. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109935>.

Zulueta, A., Esteve, M.J., & Frígola, A. (2009). ORAC and TEAC assays comparison to measure the antioxidant capacity of food products. *Food Chemistry*. 114(1), 310-316. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.033>.

CONCLUSÕES GERAIS

O mapeamento de patentes revelou que ainda há um baixo percentual de depósitos de patentes associadas às bebidas isotônicas contendo preparações de soro de leite, e adicionadas de produtos vegetais ou animais. Dessa forma, verificou-se o potencial de inovação do desenvolvimento da bebida isotônica com soro de Ricota adicionada de polpa de maracujá-da-Caatinga (cv. BRS Sertão Forte).

A caracterização dos frutos de maracujá nos dois estádios de maturação adequados ao consumo (intermediário e maduro) revelou que essas polpas apresentam alta capacidade antioxidante, alto teor de minerais, flavonoides e fenólicos totais em relação a outras espécies de *Passiflora*. Podem ser consideradas excelentes fontes de K e outros minerais como Ca, Mg e Na e compostos fenólicos como isoquercetina e rutina.

O estudo também demonstrou que as bebidas isotônicas elaboradas possuem potencial bioativo, de acordo com a capacidade antioxidante e o teor total de compostos fenólicos em sua composição. Todas as formulações desenvolvidas exibem concentrações osmóticas e teor de açúcares adequados, contêm os principais eletrólitos perdidos durante o exercício físico e apresentam boa aceitação sensorial por consumidores regulares de isotônicos, com notas médias acima de 6 na aceitação global.

A formulação com 50% de soro de Ricota e 12% de polpa de maracujá (I3) obteve os melhores escores nos testes sensoriais e apresentou a maior atividade antioxidante em relação as demais formulações. Além disso, suas características físico-químicas e segurança microbiológica foram mantidas durante o período de 56 dias de armazenamento a 7 ° C.

Por outro lado, a digestão gastrointestinal simulada dos minerais presentes nos isotônicos demonstrou que as bebidas com 50% RCW e 5% polpa (I1) e bebidas com 30% RCW e 12% polpa (I3) exibiram alta bioacessibilidade de K, Na e Mg, comparada a formulação com 50% RCW e 8,5% polpa (I2).

Por fim, verificou-se que as bebidas produzidas neste estudo são alternativas inovadoras para o mercado de suplementos para atletas e os resultados alcançados possibilitaram a realização do depósito de patente com as formulações propostas (BR102020016248-9).

APÊNDICES

APÊNDICE 1 - FORMULÁRIO DE ANÁLISE SENSORIAL

Ficha de Análise Sensorial																	
Nome: _____ Idade: _____ Gênero: Masc.() Fem.() Outro() Já consumiu bebida isotônica? (tipo <i>Gatorade</i>®, <i>Powerade</i>®...) Sim []; Não [] Pratica algum esporte ou atividade física? Sim []; Não [] Se sim, quantas vezes por semana? 1 a 2 []; 3 ou mais []. Observe cada uma das amostras e prove-as. Indique o quanto você gostou ou desgostou, dando nota aos atributos sensoriais de acordo com a escala abaixo. <table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 40%; vertical-align: top; padding: 5px;"> 9 - Gostei extremamente 8 - Gostei muito 7 - Gostei moderadamente 6 - Gostei ligeiramente 5 - Nem gostei/ Nem desgostei 4 - Desgostei ligeiramente 3 - Desgostei moderadamente 2 - Desgostei muito 1 - Desgostei extremamente </td> <td style="width: 20%; text-align: center; vertical-align: middle; padding: 5px;"> Atributos Cor Aroma Sabor Aceitabilidade geral </td> <td style="width: 40%; border-left: 1px solid black; padding: 5px;"> <table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <th colspan="3" style="text-align: center; border-bottom: 1px solid black;">Amostras</th> </tr> <tr> <th style="width: 33%; text-align: center; border-bottom: 1px solid black;">x</th> <th style="width: 33%; text-align: center; border-bottom: 1px solid black;">xx</th> <th style="width: 33%; text-align: center; border-bottom: 1px solid black;">xxx</th> </tr> <tr> <td style="height: 100px;"></td> <td></td> <td></td> </tr> </table> </td> </tr> </table> Em relação a intenção de compra, qual seria a sua atitude? <table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 50%; vertical-align: top; padding: 5px;"> 5 – Certamente Compraria 4 – Provavelmente Compraria 3 – Não sei se compraria ou não 2 – Provavelmente não Compraria 1 – Certamente não Compraria </td> <td style="width: 50%; padding: 5px;"> Amostra: Nota x: _____ xx: _____ xxx: _____ </td> </tr> </table> Obrigada!				9 - Gostei extremamente 8 - Gostei muito 7 - Gostei moderadamente 6 - Gostei ligeiramente 5 - Nem gostei/ Nem desgostei 4 - Desgostei ligeiramente 3 - Desgostei moderadamente 2 - Desgostei muito 1 - Desgostei extremamente	Atributos Cor Aroma Sabor Aceitabilidade geral	<table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <th colspan="3" style="text-align: center; border-bottom: 1px solid black;">Amostras</th> </tr> <tr> <th style="width: 33%; text-align: center; border-bottom: 1px solid black;">x</th> <th style="width: 33%; text-align: center; border-bottom: 1px solid black;">xx</th> <th style="width: 33%; text-align: center; border-bottom: 1px solid black;">xxx</th> </tr> <tr> <td style="height: 100px;"></td> <td></td> <td></td> </tr> </table>	Amostras			x	xx	xxx				5 – Certamente Compraria 4 – Provavelmente Compraria 3 – Não sei se compraria ou não 2 – Provavelmente não Compraria 1 – Certamente não Compraria	Amostra: Nota x: _____ xx: _____ xxx: _____
9 - Gostei extremamente 8 - Gostei muito 7 - Gostei moderadamente 6 - Gostei ligeiramente 5 - Nem gostei/ Nem desgostei 4 - Desgostei ligeiramente 3 - Desgostei moderadamente 2 - Desgostei muito 1 - Desgostei extremamente	Atributos Cor Aroma Sabor Aceitabilidade geral	<table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <th colspan="3" style="text-align: center; border-bottom: 1px solid black;">Amostras</th> </tr> <tr> <th style="width: 33%; text-align: center; border-bottom: 1px solid black;">x</th> <th style="width: 33%; text-align: center; border-bottom: 1px solid black;">xx</th> <th style="width: 33%; text-align: center; border-bottom: 1px solid black;">xxx</th> </tr> <tr> <td style="height: 100px;"></td> <td></td> <td></td> </tr> </table>	Amostras			x	xx	xxx									
Amostras																	
x	xx	xxx															
5 – Certamente Compraria 4 – Provavelmente Compraria 3 – Não sei se compraria ou não 2 – Provavelmente não Compraria 1 – Certamente não Compraria	Amostra: Nota x: _____ xx: _____ xxx: _____																

APÊNDICE 2 - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

As pesquisas envolvendo seres humanos são norteadas pela Resolução CNS nº 466/2012.

Prezado(a) Senhor(a),

O presente projeto trata-se de uma avaliação sensorial de formulações de bebida isotônica que será desenvolvida por GRACIETE DE SOUZA SILVA, aluna do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal da Paraíba, sob a orientação da professora Dra. Haíssa Roberta Cardarelli.

As bebidas isotônicas são suplementos formulados com a finalidade de repor as perdas de água e de eletrólitos (minerais) de atletas ou praticantes de atividade física intensa em decorrência de treinamento ou competições.

O objetivo do estudo é desenvolver uma bebida isotônica a base de soro de ricota com adição de polpa de maracujá-da-caatinga. A finalidade deste trabalho é revelar o potencial tecnológico e nutricional do aproveitamento de um subproduto que pode ser obtido facilmente nos laticínios, na produção de um suplemento isotônico. Além disso, agregar ao produto formulado os benefícios nutricionais de uma fruta nativa da região Nordeste, com sabor novo e exótico, de cultivo resistente ao ataque de pragas, o que dispensa o uso de agrotóxicos, possibilitando o interesse industrial.

As formulações de isotônico desenvolvidas serão devidamente avaliadas quanto à qualidade microbiológica e físico-química seguindo as exigências da legislação brasileira (IN nº16/2005, RDC nº 12/2001e RDC nº18/2010). Somente após a constatação da inocuidade das formulações é que serão realizadas as análises sensoriais para verificar a aceitação da bebida quanto aos atributos aroma, cor, sabor, aparência global e intenção de compra.

É oportuno destacar que não existem contra-indicações quanto ao uso de isotônicos por pessoas saudáveis e ativas. Pessoas portadoras de doenças e disfunções orgânicas, como hipertensão e doenças renais ou diabetes, devem consultar um médico antes de consumir este tipo de bebida.

Solicitamos sua colaboração para a realização das análises sensoriais e sua autorização para apresentar os resultados deste estudo em eventos da área de alimentos e publicações em revistas científicas. Por ocasião da publicação dos resultados, seu nome será mantido em sigilo.

Esclarecemos que sua participação no estudo é voluntária e, portanto, o (a) senhor (a) não é obrigado (a) a fornecer as informações e/ou colaborar com as atividades solicitadas pesquisador(a). Caso decida não participar do estudo, ou resolver a qualquer momento desistir do mesmo, não sofrerá nenhum dano. Os pesquisadores estarão a sua disposição para qualquer esclarecimento que considere necessário em qualquer etapa da pesquisa.

Assinatura do(a) pesquisador(a) responsável

Considerando as informações apresentadas, declaro o meu consentimento em participar da pesquisa, como também concordo que os dados obtidos na investigação sejam utilizados para fins científicos. Estou ciente que receberei uma via desse documento.

João Pessoa, ____ de ____ de ____

Impressão dactiloscópica

Assinatura do participante ou responsável legal

Contato com o Pesquisador (a) Responsável:

Caso necessite de maiores informações sobre o presente estudo, favor ligar para a pesquisadora GRACIETE SILVA pelo tel.: (83)98875-1090 / e-mail: graciete.ael@gmail.com ou para o Comitê de Ética do Hospital Universitário Lauro Wanderley - Endereço: Hospital Universitário Lauro Wanderley-HULW, 2º andar. Cidade Universitária. Castelo Branco, João Pessoa PB. CEP: 58059-900. E-mail: comitedeetica@hulw.ufpb.br Campus I. Fone: 83 32167964