

**INSTITUTO FEDERAL CATARINENSE – *CAMPUS* ARAQUARI**

**Daniel Elias de Paula Araujo, Fabiúla Suianí Delfino, João Vitor**

**Provesi, Luiz Gustavo Skiba, Marcelo Gabriel Hasper**

**DESENVOLVIMENTO DE UM ISOTÔNICO CAFEINADO  
A BASE DO SORO DE LEITE E POLPA DE FRUTAS  
DESTINADO A ESPORTISTAS**

**ARAQUARI/SC**

**2018**

**Daniel Elias de Paula Araujo, Fabiúla Suianí Delfino, João Vitor  
Provesi, Luiz Gustavo Skiba, Marcelo Gabriel Hasper**

**DESENVOLVIMENTO DE UM ISOTÔNICO CAFEINADO  
A BASE DO SORO DE LEITE E POLPA DE FRUTAS  
DESTINADO A ESPORTISTAS**

Trabalho de Defesa do Projeto de Iniciação Científica apresentado ao Instituto Federal Catarinense – *Campus* Araquari, orientado pela Prof<sup>a</sup> Paula Vergara da Silva, como parte complementar à matriz curricular do Curso Técnico em Química Integrado ao Ensino Médio.

**ARAQUARI/SC**

**2018**

## **RESUMO**

Alimentos funcionais são aqueles que apresentam potenciais efeitos benéficos para a saúde, englobando também as bebidas. Bebidas isotônicas podem vir a se tornar uma fonte de substâncias funcionais devido à simplicidade de sua formulação e, uma das possibilidades é torná-la também energética. Bebidas energéticas são geralmente dotadas de doses de cafeína. O objetivo deste trabalho foi desenvolver uma bebida funcional à base do soro de leite contendo frutas e, posteriormente, avaliar a atuação da mesma na performance de atletas. Foram realizados testes de desenvolvimento das formulações da bebida, assim como a execução de diversos métodos de extração de cafeína, no intuito de encontrar a forma mais viável e rentável de obtê-la. A formulação final será composta por 40-45% de água, 50% lactossoro, 5 a 10% de polpa de maracujá ou butiá, conservantes e uma dose de 210 mg de cafeína por litro. A cafeína utilizada será provinda de suplemento alimentar (cafeína em cápsulas). Nesta pesquisa estiveram previstas práticas relacionadas a análises químicas (extração da cafeína e determinação de sua pureza), análise sensorial de alimentos e tecnologia de alimentos.

Palavras-chave: cafeína, efeitos ergogênicos, isotônico, lactossoro, tecnologia de bebidas, SPRINZ.

## **ABSTRACT**

Foods are those that present unsatisfactory for health, encompassing also as beverages. Isotonic beverages can be a source of electrical elements due to the simplicity of its formulation and one of the possibilities is to become also energetic. Energy drinks are usually endowed with caffeine doses. The objective of this work was to develop a functional beverage based on whey containing fruits and, later, to evaluate the performance of the same in the performance of athletes. Tests were carried out on the development of the beverage formulations, as well as the execution of several methods of extracting caffeine, in order to find the most feasible and cost-effective way to obtain it. The final formulation will consist of 40-45% water, 50% lactose, 5 to 10% passion fruit pulp or *butiá*, preservatives and a dose of 210 mg of caffeine per liter. The caffeine used will come from a dietary supplement (caffeine in capsules). The caffeine used will come from a dietary supplement (caffeine in capsules). In this research, practices related to chemical analysis (extraction of caffeine and determination of its purity), sensory analysis of food and food technology were foreseen.

**Keywords:** caffeine, ergogenic effects, isotonic, whey, beverages technology, SPRINZ.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>05</b>
1.1 JUSTIFICATIVA .....	05
1.2 OBJETIVO GERAL .....	06
1.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	06
1.4 DELIMITAÇÃO DA PESQUISA .....	06
<b>2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA .....</b>	<b>07</b>
2.1 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DA CAFEÍNA .....	07
2.2 BIOATIVIDADE DA CAFEÍNA .....	07
<b>2.2.1 Efeitos ergogênicos da cafeína .....</b>	<b>08</b>
2.3 ISOTÔNICOS: UM PRODUTO PARA ESPORTISTAS .....	08
2.4 EXTRAÇÃO DA CAFEÍNA .....	09
2.5 UTILIZAÇÃO DO SORO DE LEITE .....	10
<b>2.5.1 Soro do leite no desempenho físico .....</b>	<b>10</b>
2.6 CARACTERIZAÇÃO DAS POLPAS DE BUTIÁ E MARACUJÁ .....	11
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>12</b>
3.1 EXTRAÇÃO DA CAFEÍNA .....	12
3.2 FORMULAÇÃO DO PRODUTO .....	13
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>15</b>
4.1 OBTENÇÃO DA CAFEÍNA .....	15
4.2 FORMULAÇÃO DO PRODUTO .....	16
<b>5 CONCLUSÃO .....</b>	<b>19</b>
5.1 CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS .....	19

## REFERÊNCIAS

## 1 INTRODUÇÃO

Isotônicos são bebidas repositoras de eletrólitos formuladas para suprir as necessidades relacionadas aos exercícios físicos, facilitando assim a reidratação do indivíduo durante ou após exaustivas atividades físicas. Por outro lado, a cafeína é um composto conhecido pelas suas propriedades fisiológicas e farmacológicas principalmente em relação ao seu efeito na redução do sono e ações estimulantes. Pode ser extraída de um produto natural ou sintetizada por reações químicas controladas, podendo ser adicionada a produtos alimentícios e medicamentos (NCI, 2015).

Um outro produto de interesse, o soro do leite, é gerado na fabricação de queijos como um subproduto normalmente abundante. Sua ação biológica em praticantes de esportes e outras atividades físicas se dá pelo favorecimento do ganho de força muscular em função do seu conteúdo proteico e por elevar a concentração de glutatona, substância de antioxidante (HARAGUCHI *et al.*, 2006).

A utilização da polpa de fruta no produto desenvolvido, dá a ele uma característica funcional ao metabolismo, sendo esta a inclusão da polpa de maracujá, fruta tropical possuidora de substâncias antioxidantes como carotenóides, auxiliando na emancipação do nível de estresse oxidativo celular (RUFINO *et al.*, 2010; HASSIMOTTO; GENOVESE; LAJOLO, 2005).

Desta forma, a associação de uma solução isotônica com cafeína, polpa de fruta e soro do leite podem resultar numa bebida com potencial de fornecer eletrólitos ao corpo, melhorar o desempenho dos atletas e fornecer nutrientes para a saúde do consumidor.

### 1.1 JUSTIFICATIVA

A tecnologia de alimentos tem se manifestado de maneira dinâmica e de diferentes formas, tanto para a conservação dos alimentos, passando pela produção de novos sabores, aromas e texturas, quanto para o objetivo mais primitivo que seria a nutrição. A formulação de novos produtos e a junção de produtos já existentes para somar características supre uma indústria rica e diversificada mundialmente representada.

A ideia de aproveitar o soro do leite para produzir uma bebida com repositores eletrolíticos e que contenha um composto conhecidamente bioativo se tornou interessante do ponto de vista econômico e nutricional, uma vez que seria dado um destino a um

subproduto industrial, o soro, com a soma de propriedades nutricionais, a característica isotônica dos eletrólitos e a ação de alerta promovida pela cafeína.

Na fisiologia do exercício, muitos pesquisadores estudaram efeitos de diferentes compostos como substâncias potencialmente ergogênicas que poderiam auxiliar na melhora do desempenho desportivo, como a cafeína, por exemplo. Contudo, nas duas últimas décadas, houve controvérsias nos resultados desses estudos pois, enquanto alguns pesquisadores mostraram dados positivos sobre a ergogenicidade dos compostos, outros não encontraram resultados favoráveis sobre a ação destes no desempenho desportivo (GUERRA, R. O; BERNARDO, G. C.; GUTIERREZ, C. V., 2000).

Desta forma, novos estudos para investigar as particularidades das ações de substâncias ergogênicas no organismo, bem como a formulação de novos produtos com componentes bioativos, tornam-se necessários. É importante salientar ainda, que não há conhecimento sobre a existência de uma bebida comercial com propriedades isotônicas que tenha sido adicionada de cafeína, o que é passível de registro de patente futuramente.

## 1.2 OBJETIVO GERAL

Desenvolver uma bebida isotônica cafeinada a base de soro de leite e polpa de frutas, capaz de proporcionar efeitos ergogênicos aos consumidores.

## 1.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Extrair a cafeína da erva-mate, testando diversos métodos extração;
- Definir melhor método de extração da cafeína levando em consideração rendimento, viabilidade econômica e de tempo;
- Desenvolver diversas formulações para o isotônico a fim de se adequar a melhor delas para produção.
- Atingir a maior rentabilidade econômica possível na obtenção do soro de leite, efluente da produção de queijo;

## 1.4 DELIMITAÇÃO DA PESQUISA

A presente pesquisa teve como principal foco o desenvolvimento de uma bebida isotônica cafeinada, que, posteriormente será adaptada para avaliação sensorial e, ainda,

testada em atletas para observação de parâmetros como a taxa de respostas a exercícios físicos e estado de alerta. Esta última etapa deverá ser realizada por pesquisadores do *Sports Performance Research Institute New Zealand* (SPRINZ), da Nova Zelândia, em uma parceria que se deu através do contato entre o precedente orientador deste projeto e os pesquisadores da SPRINZ.

## 2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 2.1 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DA CAFEÍNA

A cafeína (Figura 1) é uma molécula derivada da xantina cuja fórmula molecular é  $C_8H_{10}N_4O_2$ . Quimicamente, recebe outros nomes, como 1,3,7-trimetilxantina (1,3,7-Trimethylxanthine, IUPAC), trimetilxantina, teína, mateína, guaranina ou metilteobromina. Suas principais fontes naturais são sementes de café, cacau, chás, guaraná e nozes de cola (NCI, 2015). Em seu estado puro, existe em forma de um pó branco ou em pequenas agulhas (quando anidra).

É uma substância inodora de gosto amargo. Possui densidade de  $1,2 \text{ g/cm}^3$ , ponto de fusão de  $238^\circ\text{C}$  e de sublimação  $178^\circ\text{C}$ , em condições normais de temperatura e pressão (AGYEMANG-YEBOAH; ASARE-ANANE; OPPONG, 2013). A cafeína também é hidrossolúvel (máximo de  $21,70 \text{ g/L}$  de água, a  $25^\circ\text{C}$ ) e resiste a temperaturas elevadas como ao processo de torra dos grãos de café (DIAS; BENASSI, 2015).

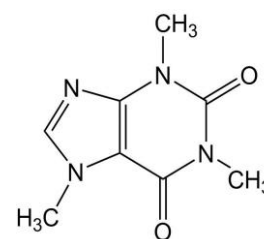


Figura 1 - Estrutura da cafeína

### 2.2 BIOATIVIDADE DA CAFEÍNA

A cafeína tem o poder de desencadear diversas reações no organismo, causando uma série de efeitos fisiológicos que podem variar de acordo com a quantidade ingerida, idade e massa corporal (HECKMAN *et al.*, 2010). Dentre as xantinas, a cafeína é o estimulante mais potente, podendo causar a dependência química. A cafeína é metabolizada pelo fígado, tendo um ciclo de atuação no organismo de três à seis horas, e



logo após, os produtos de seu metabolismo são eliminados por processos de excreção, especialmente pela urina. (BRENELLI, 2003).

A cafeína desempenha função estimulante do sistema nervoso central (SNC) e, por ser estruturalmente parecida com a molécula de adenosina, age como antagonista nos receptores da mesma, impedindo as ligações do SNC com a molécula de adenosina, o que, por vez, estimula os centros vasomotores, vagais, medulares e respiratórios no cérebro (NCI, 2015). Este mecanismo é responsável também pelo aumento na frequência cardíaca e intensidade respiratória, já que, ao atuar nos receptores do SNC, ela aumenta a sensibilidade à concentração de gás carbônico provocando tal eventualidade (ALMEIDA; PEREIRA; MOREIRA, 2013).

### **2.2.1 Efeitos ergogênicos da cafeína**

De acordo com Williams *et al.* (2002), as alterações fisiológicas e metabólicas causadas pela ingestão da cafeína têm sido notadas como recursos ergogênicos há mais de 100 anos. Porém, segundo Altimari *et al.* (2000) apenas no início do século XXI houve um grande aumento na importância do estudo da eficácia da cafeína como estimulante físico. Desde então seu potencial ergogênico vem sendo testado em exercícios físicos de diferentes naturezas. A literatura tem apontado que a cafeína tem o poder de modular o desempenho atlético, principalmente devido ao seu potencial de poupar o uso do glicogênio muscular (ANNUNCIATO *et al.*, 2009). Os estudos apontam melhorias significativas na performance física após a ingestão de doses de 3 a 6 mg/kg de massa corporal (ALTIMARI *et al.*, 2005). Apesar de seu potencial ergogênico ter sido relatado, o uso da cafeína não é proibido pela Agência Mundial Antidoping (WADA), porém ainda é regularizado pelo Comitê Olímpico Internacional (COI) (GOSTON, 2011).

## **2.3 ISOTÔNICOS: UM PRODUTO PARA ESPORTISTAS**

Com o nome técnico de suplemento hidroeletrólítico para atletas, segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2010), as bebidas isotônicas são repositores de sais minerais perdidos na atividade física e auxiliadoras na reidratação dos atletas. Comercialmente são vendidas com sabores de frutas e coloridas. Os isotônicos assim denominados devem apresentar de acordo com a Resolução-RDC 18/2010 da ANVISA, capítulo III e artigo 6º, uma osmolalidade entre 270 e 330 mOsm/kg de água,

carboidratos até 8%, frutose até 3% (massa/volume), concentração de sódio entre 460 1150 mg/L e de potássio até 700 mg/L, dentre outros requisitos específicos. É importante destacar que a ANVISA também sugere que o produto não pode ser adicionado de outros nutrientes que não sejam vitaminas e minerais. Desta forma, seria produzido um novo produto cafeinado que, originalmente, não seria exatamente um isotônico, mas uma bebida isotônica cafeinada.

A concentração de açúcares prevista, na faixa de 5 a 8% tem um função importante, que é auxiliar na melhor mobilidade no sentido de digestão estomacal, facilitando assim a absorção de nutrientes do atleta durante a ingestão do produto (FILHO, 2010).

Os eletrólitos, presentes nos isotônicos comerciais, estão envolvidos na maioria dos processos biológicos e os mais importantes são o sódio, o cloreto, o potássio, o cálcio, o magnésio e o fósforo, que caracterizam o produto exatamente pela presença dos mesmos em quantidades significativas a fim de serem repostos no organismo quando ocorre uma perda considerável (no caso de atletas durante e após os exercícios) (MATTA, 2009). Normalmente são adicionados no formato de sais sintéticos ou ainda podem ser encontrados naturalmente em substratos como o soro do leite.

## 2.4 EXTRAÇÃO DA CAFEÍNA

Para a definição de um método de extração eficiente em termos econômicos, ecológicos e de salubridade ao analista, diversos trabalhos da literatura foram avaliados e comparados. A matéria-prima, de onde será extraída a cafeína, foi escolhida pelo rendimento resultante e também pela ocorrência regional.

A erva mate (*Ilex paraguariensis*) e o Chá Preto (*Camellia sinensis*) são os mais produzidos na região. A produção de Erva Mate é superior à do chá preto (IBGE, 2016), e tal fato acarreta no elevado preço do segundo. O chá preto é um produto comumente processado com mais etapas industriais do que a erva mate, também justificando a diferença de preço. Além disso, indústrias da região foram consultadas para indicação de uma matéria-prima mais apropriada para a extração da cafeína. O método mais eficiente encontrado tem rendimento de 1,2%, resultando em R\$ 1,00 por grama de cafeína. Utilizando o chá preto, o preço da cafeína por grama sobe para R\$ 2,85, mesmo com rendimento maior (2,1%) na extração. Além disso, a erva-mate é uma produção mais

difundida na região Norte de Santa Catarina e Sul do Paraná. Estas observações levaram à escolha da erva-mate como fonte de cafeína para a produção da bebida isotônica.

## 2.5 UTILIZAÇÃO DO SORO DE LEITE

Considerado um efluente residual que pode acarretar graves problemas ambientais devido ao seu alto teor de matéria orgânica, as indústrias têm buscado alternativas para a utilização do lactossoro resultante da fabricação convencional de queijos. Chaves *et al.* (2010) afirmam que a destinação incorreta do soro do leite pode conduzir a poluição das águas, geração de odor desagradável e comprometimento da estrutura físico-química do solo, conseqüentemente, descumprindo leis ambientais. Além disso, há algumas décadas não se tinha muito conhecimento a respeito da composição e aplicações para o soro do leite, se pensava ser um produto sem grandes atrativos para as indústrias alimentícias.

O soro do leite contém em média, 93% de água, 5% de lactose, 0,7 a 0,9% de proteínas, 0,3 a 0,5% de gordura, 0,2% de ácido láctico e pequenas quantidades de vitaminas. A fração protéica contém aproximadamente 50% de  $\beta$ -lactoglobulina, 25% de  $\alpha$ -lactoalbumina e 25% de outras proteínas, como imunoglobulinas (FITZSIMONS *et al.*, 2006). Devido ao seu alto valor nutritivo, especialmente no que se refere às suas proteínas específicas, o cenário de aproveitamento deste produto tratado como resíduo anteriormente, modificou de forma drástica nos últimos anos. Atualmente é possível observar seu aproveitamento na elaboração de diversos produtos alimentícios como bebidas lácteas fermentadas ou achocolatadas, ricota (ou como incremento protéico de produtos) e os confere excelentes propriedades funcionais, nutricionais e aromáticas.

### 2.5.1 Soro do leite no desempenho físico

Sabendo que uma boa nutrição traz um melhor desenvolvimento para o desempenho físico e as proteínas são necessárias na formação, crescimento e desenvolvimento de tecidos corporais, as proteínas do soro do leite têm sido muito utilizadas por praticantes de atividades físicas. Cermak *et al.* (2012) fizeram uma análise que mostrou que a suplementação com proteínas está fortemente ligada ao ganho de massa e força muscular tanto em adultos jovens quanto em mais velhos. A vantagem no ganho de massa muscular está relacionada ao perfil de aminoácidos, em especial de leucina, que tem sido associada ao processo de ativação de iniciação da síntese proteica

e a  $\beta$ -lactoglobulina, maior fração protéica constituinte do soro do leite, que apresenta maior quantidade de aminoácidos de cadeia ramificada, tornando-a uma das principais responsáveis pelo estímulo do ganho muscular quando associado a atividades esportivas.

De acordo com estudo de Sgarbieri (2004), as proteínas do soro oferecem diversos benefícios exclusivos: recuperação eficiente, aumento da imunidade e melhoria dos resultados do treinamento físico. Além disso, o aminoácido da proteína do soro do leite possui um perfil rico em L-leucina, que favorece o anabolismo celular e, por apresentar alto teor de cálcio e de peptídeos bioativos, proporciona possíveis efeitos sobre a síntese proteica muscular esquelética e redução da gordura corporal. Consumidores de bebidas adicionadas de carboidratos e proteínas após o exercício conseguem uma melhor retenção hídrica se comparados a outros que consomem a bebida apenas contendo carboidrato. Essa maior retenção hídrica irá ajudar na recuperação pós-exercício e, conseqüentemente, influenciará nos próximos (NUNES, 2014). Logo, o consumo de uma bebida à base de soro de leite atende todas as exigências para auxiliar a reidratação do indivíduo visto que será rica em proteínas, carboidratos e água.

## 2.6 CARACTERIZAÇÃO DAS POLPAS DE BUTIÁ E MARACUJÁ

Segundo Faria *et al.* (2008), a polpa de butiá, quando comparada a de outras frutas normalmente consumidas, apresenta elevado teor de carboidratos (10,8%), além de óleo em 2,5%, fibra dietética em 7%, pró-vitamina A em 146,2 RAE (Equivalente de Atividade de Retinol) a cada 100g, 53 mg de vitamina C a cada 100g, compostos fenólicos (210 mg de catequina e 116 mg de ácido tânico e cada 100 g) e potássio (516 mg a cada 100 g). O butiá também tem elevado potencial para enriquecer a alimentação, especialmente como fonte de fibras, pró-vitamina A, vitamina C e potássio. Já a polpa de maracujá, segundo Araújo *et al.* (2009), com pH 3, apresenta em sua composição glicose em 7,8% e sacarose em 1%, cerca de 10,7% de vitamina C e 1% de proteína. Além disso, conforme Zeraik *et al.* (2009), é um fruto rico em alcaloides, flavonoides, carotenoides, minerais e vitaminas A. Assim sendo, o maracujá pode ter diversas propriedades funcionais e, dentre elas, podem ser citadas: antioxidante, anti-hipertensão, e diminuição da taxa de glicose e de colesterol do sangue. O butiá, também apresenta potencial nutricional interessante, embora necessite de mais estudos para a caracterização do seu fruto quanto aos possíveis compostos antioxidantes, relacionados ao pigmento presente. Tais dados revelam o potencial nutricional destes frutos.

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 EXTRAÇÃO DA CAFEÍNA

Foram estudados e reproduzidos três métodos de extração como ensaios, para que assim pudesse ser escolhido o que fosse mais favorável, considerando alguns fatores como rendimento de extração, facilidades do processo, segurança laboratorial, gestão econômica e geração de resíduos. Todos os métodos tiveram a erva-mate como amostra para fonte de cafeína. De forma resumida, pode-se citar o Método I como extração por Soxhlet e evaporação, Método II sendo extração em meio básico e Método III extração através da ebulição e cristalização.

O Método I foi realizado por um procedimento adaptado para amostras solúveis e não solúveis em água, descrito por Adam (1996) *apud* Brenelli (2003). Utilizando um extrator de Soxhlet, o teste ocorreu da seguinte forma: Foram pesados 10 g de amostra de erva mate em um cartucho para Soxhlet e, em um balão de 250 mL adicionados 150 mL de etanol. A mistura foi refluxada durante duas horas a 80 °C. Após o extrato esfriar à temperatura ambiente, adicionou-se 100 mL de solução aquosa de óxido de magnésio a 10%; (11,11 g de MgO em 100 g de água). O etanol foi evaporado em um evaporador rotativo; (Pe: 78,35 °C) e a pasta resultante foi transferida para um béquer de 500 mL com o auxílio de etanol. A mistura foi levada ao banho para ebulição durante 30 min a 105 °C, esfriada à temperatura ambiente e filtrada à vácuo com filtro qualitativo. Ao sobrenadante, adicionou-se 10 mL de solução de ácido sulfúrico 0,1 mol/L (0,0532 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) completando com água. O pH foi medido até que estivesse próximo a 1 e, em uma placa de aquecimento e agitação, o sobrenadante foi ebulido até a metade do seu volume original e esfriado à temperatura ambiente. O sobrenadante foi extraído com três porções de 15 mL de diclorometano (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), agitando a solução a cada adição da porção de diclorometano. Aos extratos orgânicos combinados, adicionou-se 8 mL de solução de hidróxido de potássio 0,1 mol/L; (0,0448 g em 8 mL de água) e transferida a camada orgânica para um erlenmeyer. Foi lavada a fase aquosa básica com duas porções de 5 mL de diclorometano e secada com sulfato de sódio anidro (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), colocando duas porções (espátula cheia) do sal no papel filtro. Evaporou-se o diclorometano (Pe: 39,6 °C) em um balão de 100 mL já tarado para obter a cafeína pura.

O Método II está disposto na apostila de Química Orgânica Experimental, disponível no acervo pessoal da Universidade Federal de Santa Catarina. Consiste em uma extração em meio básico, misturando 15 g de erva-mate em 150 mL de água para manter em ebulição e agitação durante 20 min e, então, filtrar à vácuo para eliminar os resíduos sólidos. Ao filtrado, adicionou-se 7 g de carbonato de cálcio ( $\text{CaCO}_3$ ) para auxiliar na precipitação. Em um funil de separação, a cafeína foi extraída acrescentando 4 porções de 20 mL de clorofórmio ( $\text{CHCl}_3$ ) realizando breves agitações manuais, descartando a fase aquosa ao final. Foi utilizado um bastão de vidro e adicionada uma solução saturada de cloreto de sódio ( $\text{NaCl}$ ) para realizar a quebra das emulsões provenientes da agitação anterior. Então acrescentou-se sulfato de sódio anidro a amostra para remover aquosos ou emulsivos e, após, realizada uma filtração para retirá-lo. Levou-se o filtrado ao evaporador rotativo para que se recuperasse o solvente e a amostra obtida foi solubilizada com a mínima quantidade de tolueno possível, submetida a aquecimento e adicionadas algumas gotas de éter de petróleo para obter a cafeína pura.

O Método III foi adaptado de Silva (2010), já sido realizado anteriormente pela extração de cafeína do chá preto mas, desta vez, utilizando a erva-mate como amostra. Consiste em adicionar 300 mL de água destilada em um béquer e levar ao banho até que se inicie a ebulição, então são adicionadas 36 g de erva-mate para infusão durante 15 min. Após, o béquer é retirado do aparelho para esfriar e a solução é filtrada cuidadosamente para que o mínimo possível da parte sólida caia no papel de filtro. Então são adicionados 20 mL de solução saturada de carbonato de sódio e a solução é transferida para um funil de separação com a válvula fechada, adicionados 30 mL de clorofórmio, realizada uma leve agitação manualmente com alívio de pressão e, após aguardar as duas fases se separarem, a válvula é aberta para coletar a fase mais clara (inferior), enquanto a fase escura (superior) é reservada no funil de separação. Este processo de lavagem é realizado três vezes. Após as lavagens, a solução escura reservada no balão é descartada e se inicia então o processo de cristalização da cafeína por meio de ebulição da fase líquida com utilização de uma chapa de aquecimento a 100 °C.

### 3.2 FORMULAÇÃO DO PRODUTO

A formulação final da bebida isotônica que se pretende desenvolver, é baseada em uma breve avaliação na composição de bebidas eletrolíticas já disponíveis comercialmente. Em resumo, o isotônico será composto por água, polpa de frutas

(maracujá e butiá), eletrólitos adicionados como cloreto de potássio e fósforo (se necessário, dependendo da composição do soro), sacarose como fonte de carboidrato, sorbato de potássio e benzoato de sódio como conservantes, além da cafeína como princípio ativo e soro de leite proveniente da produção de queijo realizada no Laticínios do *campus*. Para o planejamento experimental será realizado um teste  $2^2$  com auxílio do Programa Estatística (STATSOFT) a fim de definir as formulações. A escolha das frutas maracujá e butiá para compor o produto se deu pela ocorrência regional de ambas e, também, por serem fontes de compostos AH (carotenoides) embora seja necessário determinar posteriormente sua concentração nas polpas.

A polpa de maracujá foi doada pelo setor de Fruticultura do Instituto Federal Catarinense – *Campus* Araquari e, a do butiá, por produtores de polpa da região Sul de Santa Catarina. Ambas foram recepcionadas congeladas, logo foram descongeladas em refrigeração e depois processadas em liquidificador para homogeneização total e filtradas para eliminação de sementes e fibras indesejáveis.

A quantidade final de cada componente será definida após a caracterização físico-química do soro de leite, assim como uma gama de testes sensoriais das formulações definidas a fim de se obter ao final, uma bebida com aspecto organoléptico agradável no questões de cor, aroma, sabor e consistência. As formulações escolhida serão submetidas à avaliações sensoriais nos testes de preferências utilizando escala hedônica, além da caracterização físico-química e microbiológica; à bebida, será adicionada uma dose de 100 a 200 mg/L de cafeína, sendo que a concentração permitida em alimentos para humanos é de até 400 mg/L, equivalente a 3 xícaras de café (ANVISA, 2010).

Após os testes sensoriais, determinadas amostras da bebida serão enviadas para os pesquisadores Dr. Andrew Kilding e Dra. Deborah Dulson do departamento SPRINZ da *Auckland University of Technology* na Nova Zelândia. O departamento irá testar o isotônico produzido em atletas de ciclismo para análise da relação entre consumo da bebida e desempenho dos atletas.

Preliminarmente foram realizadas duas séries de formulações, tendo sido testadas para obtenção de resultados a serem avaliados que irão auxiliar no início da formulação final do produto. No Ensaio I, todas as formulações tiveram diferentes concentrações de soro de leite e água, enquanto as concentrações de polpa foram fixadas, assim como demonstrado da Tabela 1. As mesmas foram elaboradas com a adição dos componentes em garrafas de vidro previamente esterilizadas, homogeneizadas e pasteurizadas (85 °C / 5 min). Após o resfriamento, foram armazenadas em refrigeração a 7 °C.

Tabela 1 - Ensaio I das formulações do isotônico.

Amostra	Soro de leite (% e Vol.)	Polpa de fruta (% e Vol.)	Água (% e Vol.)
B1 e M1	55% = 275 mL	15% = 75 mL	30% = 150 mL
B2 e M2	65% = 325 mL	15% = 75 mL	20% = 100 mL
B3 e M3	75% = 375 mL	15% = 75 mL	10% = 50 mL

B1, B2 E B3: amostras com polpa de butiá; M1, M2 e M3: amostras com polpa de maracujá

Na Tabela 1, as amostras B1, B2 e B3 correspondem às formulações dos isotônicos contendo polpa de butiá e, as amostras M1, M2 e M3 correspondem às formulações contendo polpa de maracujá. Foram preparadas amostras de 500 mL.

Já para o Ensaio II, as concentrações de soro de leite foram fixadas, à medida que as concentrações de água e polpa variaram, assim como demonstrado na Tabela 2. O soro de leite utilizado nas formulações foi proveniente da produção de queijo realizada no Laboratório de Laticínios do *campus*.

Tabela 2 - Ensaio II das formulações do isotônico.

Amostra	Soro de leite (% e Vol.)	Polpa de fruta (% e Vol.)	Água (% e Vol.)
B4 e M4	50% = 250 mL	5% = 25 mL	45% = 225 mL
B5 e M5	50% = 250 mL	10% = 50 mL	40% = 200 mL

B4 e B5: amostras com polpa de butiá; M4 e M5: amostras com polpa de maracujá

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 OBTENÇÃO DA CAFEÍNA

No Método I foi observada a longa duração do processo, cerca de cinco horas para realização completa, além de possuir uma rentabilidade menor do que os valores obtidos na literatura. Dentre os três métodos utilizados para a extração da cafeína, este foi definido como o menos prático e mais delongado, sendo que, o principal fator que influenciou para que este fosse desconsiderado é a busca por um método funcional e de preparo ágil. Além disso, os Métodos I e II se mostraram economicamente inviáveis por requisitarem de reagentes com alto custo e bastante nocivos, que não são totalmente removidos durante a



purificação, podendo causar riscos à saúde dos consumidores da bebida adicionada desta cafeína extraída.

O Método III possui a melhor relação rendimento/tempo de extração. No entanto, a cafeína obtida não se apresenta como a cafeína pura, questionando a pureza do produto final e necessitando realizar análises cromatográficas para se determinar o grau de pureza da mesma. Outro fator considerável é a inviabilidade do processo adequado de cristalização, visto que os laboratórios do *campus* não possuem os equipamentos necessários para uma cristalização adequada, reduzindo assim a eficiência do Método III.

Desta forma, observou-se que o Método III foi o que apresentou a melhor viabilidade quando comparado aos demais, devido principalmente ao menor tempo exigido para conclusão do processo, simplicidade e disposição de materiais, podendo até ser realizado mais vezes em um único dia e, conseqüentemente, obter maior extração diária de cafeína. Contudo, em relação à utilização da cafeína extraída para formulação da bebida, optou-se no momento substituí-la por cafeína comercializada em forma de suplemento alimentício, considerando fatores como gestão econômica, praticidade de obtenção para ensaios e pureza, fatores não tão acentuados no produto da extração dos métodos ensaiados. Portanto, entende-se que nenhum método de extração, possível de ser realizado em laboratório, é tão viável quanto os métodos utilizados em larga escala pelas grandes indústrias para se obter cafeína pura e de grau alimentício (inócua) para posteriormente comercializá-la como suplemento alimentar.

#### 4.2 FORMULAÇÃO DO PRODUTO

Visando que o produto final possua formulação e palatabilidade próximas a dos demais isotônicos já existentes no mercado e harmonização à definição legal de isotônico quanto à relação de nutrientes básicos (carboidratos e eletrólitos), uma série de formulações para ensaio foram desenvolvidas.

As amostras do Ensaio I foram analisadas sensorialmente pelos próprios integrantes do grupo, para avaliação subjetiva de aroma e sabor. Assim, foi possível concluir que as amostras B1 e M1 (compostas por 55% de soro, 15% de polpa de fruta e 30% de água), referentes ao sabor butiá e maracujá respectivamente, têm maior aceitação e sabor semelhante aos isotônicos já comercializados. Já as amostras B2, B3, M2 e M3 seriam descartadas, visto que apresentaram sabor excessivamente salgado devido à alta concentração de soro do leite (65% para B2 e M2 e 75% para B3 e M3). Siqueira *et al.*

(2013) descreve que o soro de leite possui em torno de 0,5 a 0,7% de sais, incluindo de cálcio, fosfatos e os cloretos. Estes cloretos, especialmente NaCl e KCl na concentração de aproximadamente 0,19 g / 100 g são os responsáveis pelo sabor desagradável que muitos julgadores sensoriais descrevem (TEIXEIRA e FONSECA, 2008).

Santos *et al.* (2008) analisou bebidas lácteas à base de soro acrescidas de polpa de fruta (manga) e observou que formulações com os maiores níveis de substituição de leite por soro de leite (60 e 80%), apresentaram os piores resultados entre as amostras analisadas, com escores médios próximos ao termo hedônico “indiferente” e “desgostei ligeiramente”. No entanto, Cruz *et al.* (2009) que estudaram o desenvolvimento de uma bebida de soro de leite adicionada de suco de acerola, concluíram que a formulação de 70% de soro e 30% de suco apresentou resultados sensoriais positivos em todos atributos analisados, incluindo o sabor.

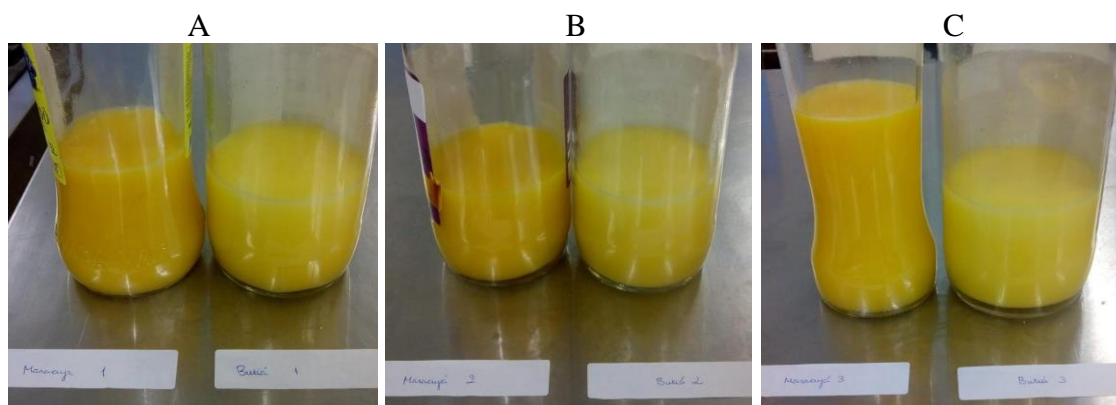


Figura 2 - A: B1 e M1; B: B2 e M2; C: B3 e M3

Tendo em vista o sabor desagradável das formulações em que foi utilizado maior concentração de soro, viu-se a necessidade de desenvolver novas formulações com maior concentração de água, menor concentração de polpa e de soro de leite, além do acréscimo de açúcar (sacarose), como apresentado na Tabela 2. Sendo assim, serão analisadas outras duas formulações com polpa de butiá (B4 e B5) e duas formulações com polpa de maracujá (M4 e M5), sendo B4 e M4 com 50% de soro, 5% de polpa de fruta e 45% de água e, B5 e M5 com 50% de soro, 10% de polpa de fruta e 40% de água.

É importante salientar que em todos os casos a quantidade de açúcar em massa adicionado é tal que, quando somada à quantidade de massa de carboidrato presente no soro de leite e na polpa de fruta, totaliza um valor de massa que representa de 5 a 8% do total da massa do isotônico, já que essa é a quantidade de carboidrato indicada.

Assim, foi possível estipular através de cálculos que à amostra M4 do Ensaio II será necessária a adição de aproximadamente 10,6 a 26,6 g de sacarose, uma vez que, de acordo com os dados encontrados na literatura, há 13,17 g de lactose em 250 mL de soro de leite e 2,92 g de frutose em 25 mL de polpa de maracujá, somando-se a quantidade de carboidratos do soro e da polpa obtém-se 16,09 g de carboidratos, representando 3% da massa total do isotônico que equivale 533,57 g. Com esses valores pode-se concluir que restam apenas 10,58 g de açúcar para que a quantidade de carboidratos totais do isotônico seja igual a 5% de sua massa e 26,59 g para que a bebida possua 8% de carboidratos. Para a realização dos cálculos foi considerado que o soro de leite possui em média 5,14 g de açúcares a cada 100 g de soro, com densidade aproximada de 1,025 g/cm<sup>3</sup> (TEIXEIRA; FONSECA, 2008) e que a polpa de maracujá possui 11 g de açúcares a cada 100 g, sendo que sua densidade é de aproximadamente 1,063 g/cm<sup>3</sup> (MATTOS; MEDEROS, 2008). Deste mesmo modo pelo qual foi estimada a quantidade mais adequada de massa de açúcar para ser adicionada à formulação M4, será feito posteriormente o cálculo para a massa de açúcar a ser adicionada à formulação B4 com polpa de butiá.

Ainda não foi medida a quantidade de sais (eletrólitos) presentes no soro de leite que compõe a bebida, portanto ainda não há conhecimento a respeito da necessidade de acrescentá-los no produto ou não, porém, conforme a literatura, pode-se intuir que não será necessária a adição de mais eletrólitos, devido a quantidade destes já presentes no soro e na polpa de cada fruta. Também observou-se um problema significativo quanto a alta turbidez do produto, o que o descaracteriza como atrativo no mercado, já que os isotônicos encontrados comercialmente até então apresentam limpidez. Este problema pode ter sido derivado da precipitação das proteínas do soro devido ao elevado tratamento térmico (90 °C / 10 min).

Ao utilizar altas concentrações de soro e consequentemente menor concentração ou ausência de caseínas na base da bebida, este fenômeno pode ocorrer. As caseínas auxiliam na estabilidade natural do leite à elevada temperatura e acidez, atuando como um agente tamponante do meio. A redução do teor de caseínas torna o alimento menos estável, podendo ocorrer a precipitação de proteínas, com consequente aparecimento de pequenos grumos e aspecto de turbidez (SANTOS *et al.*, 2008). Para solução deste problema, foram iniciados testes de clarificação através

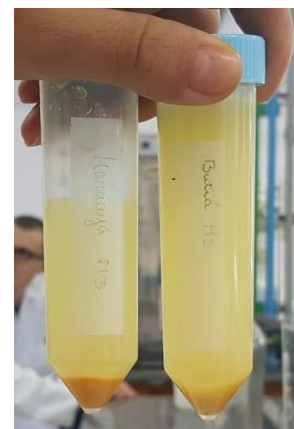


Figura 3 - Amostras B3 e M3 centrifugadas

do método de centrifugação, o qual apresentou bons resultados, porém ainda não foi definido como método fixo até mesmo por ser feito em pequena escala. Assim, para a próxima etapa do trabalho, será necessário o estudo de outros métodos de clarificação.

As amostras do Ensaio II não foram preparadas e avaliadas até então por questões de logística do processo e demanda de tempo. No entanto, serão realizadas e tratadas assim como as amostras do Ensaio I, para então se concluir quais são os parâmetros a serem ajustados para novos ensaios e também adicionar a cafeína às suas formulações. Espera-se que pela baixa concentração de cafeína, não haja interferência no sabor do produto.

## **5 CONCLUSÃO**

A partir da observação do desempenho dos métodos utilizados, foi possível concluir que, apesar da praticidade dos métodos de extração de cafeína, não há viabilidade econômica e até mesmo certificação de grau alimentício adequado à cafeína obtida. Assim sendo, preferiu-se a utilização de cápsulas de cafeína concentrada devido sua facilidade de obtenção e maior certificação de pureza.

Quanto a palatabilidade do produto, as formulações que apresentaram maior semelhança com os produtos encontrados comercialmente, após os ensaios realizados, são das amostras B1 e M1 (55% soro, 15% polpa de fruta e 30% água). No entanto, ainda devem ser realizadas novas formulações e ensaios para o produto, também considerando a presença dos conservantes, açúcares de diferentes fontes e da cafeína, visto que esta possui forte amargor que pode influenciar no sabor do isotônico.

### **5.1 CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS**

Quanto às programações futuras, as diferentes formulações do isotônico serão submetidas a testes físico-químicos, microbiológicos e sensoriais a fim de se obter variações definidas com maiores especificidades de sabor e aspecto físico, seguido da preparação do mesmo para sua utilização como produto indicado aos praticantes de desporto e suas respectivas decorrências de impacto. Tais formulações e análises serão

elaboradas e definidas no ano subsequente, assim como correções do produto em aspectos organolépticos.

## REFERÊNCIAS

ADAM, D. J.; MAINWARING, J.; QUIGLEY, Michael N. Soxhlet Extraction of Caffeine from Beverage Plants. **Chemical Education**. Widnes, p. 1171. dez. 1996.

AGYEMANG-YEBOAH, F.; ASARE-ANANE, H.; OPPONG, S. Y. **Caffeine: The wonder compound, chemistry and properties**. 3 ed. Kerala, India: Research Signpost, 2013. 11 p. Disponível em: <<http://twixar.me/c343>>. Acesso em: 19 abr. 2017.

ALMEIDA, D. V. P.; PEREIRA, N. K.; MOREIRA, D. A. R.. Efeitos Cardiovasculares da Cafeína: Revisão de literatura. **Ciências em Saúde**, Itajubá - Mg, v. 3, n. 2, p.5-7, abr. 2013. Disponível em: <[http://200.216.240.50:8484/rcsfmit/ojs-2.3.3-3/index.php/rcsfmit\\_zero/article/viewFile/254/221](http://200.216.240.50:8484/rcsfmit/ojs-2.3.3-3/index.php/rcsfmit_zero/article/viewFile/254/221)>. Acesso em: 29 abr. 2017.

ALTIMARI, L. R; MELO, J. T., et al. Efeito ergogênico da cafeína na performance em exercícios de média e longa duração. **Revista Portuguesa de Ciências do Desporto**, v.2005, n.1, p. 87-101, 2005.

ALTIMARI, L. R.; CYRINO, E. S. Z, S.M et al. Efeitos ergogênicos da cafeína sobre desempenho o físico. **Revista Paulista de Educação Física**, v.14, n. 2, p. 19, 2000.

ANNUNCIATO, R. et al. Suplementação aguda de cafeína relacionada ao aumento de força. **Revista Brasileira de Nutrição Esportiva**, v.3, n.18, p. 10, 2009.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária (brasileira) -. RDC Nº 18, DE 27 DE ABRIL DE 2010.

ARAÚJO, A. J. B; AZEVÊDO, L. C.; COSTA, F. F. P.; AZOUBEL, P. M. **Caracterização físico-química da polpa de maracujá do mato**, p. 2, 2009. Disponível em: <<https://goo.gl/g6Ruz8>>. Acesso em: 25 out. 2018.

BRENELLI, E. C. S. A extração de cafeína em bebidas estimulantes: uma nova abordagem para um experimento clássico em química orgânica. **Química Nova**, Niterói, v. 26, n. 1, p.136-138, mar. 2003. Disponível em: <[goo.gl/9Ny2nu](http://goo.gl/9Ny2nu)>. Acesso em: 14 maio 2018.

CERMAK, N. M.; RES, P. T.; GROOT, L. C. P. G. M.; SARIS, W. H. M.; VAN LOON, L. J.C. Proteins supplementation augments the adaptive response of skeletal muscle to resistance-type exercise training: a meta-analysis. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.96, n.6, 2012.

CHAVES, K. F.; CALLEGARO, E. D.; SILVA, V. R. O. Utilização do soro do leite nas indústrias de laticínios da região de Rio Pomba-MG. In: **CONGRESSO NACIONAL DE LATICÍNIOS**, 2010, Juiz de Fora. Anais do Congresso Nacional de Laticínios. Juiz de Fora: EPAMIG/ILCT, 2010.

CRUZ, A.G. et al. Milk drink using whey butter cheese (queijo manteiga) and acerola juice as a potencial source of vitamin C. **Food Bioprocess Technology**, v.2, n.4, p.368-373 2009. Disponível em: <<https://goo.gl/SaoZH7>>. Acesso em: 15 set. 2018.

DIAS, R. C. E.; BENASSI, M. T. Discrimination between Arabica and Robusta Coffees Using Hydrosoluble Compounds: Is the Efficiency of the Parameters Dependent on the Roast Degree? **Beverages**, v. 1, n. 3, p. 127-139, 2015.

FARIA, J. P. et al. Caracterização da polpa do coquinho-azedo (*Butia capitata* var *capitata*). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 30, n. 3, p. 827-829, 2008. Disponível em: <<https://goo.gl/D3aWhG>>. Acesso em: 25 out. 2018.

FILHO, W. G. V. **Bebidas não alcoólicas: Ciência e tecnologia**. ed. 2. Blucher, 2010. 412 p. v. 1.

FITZSIMONS, S. M.; MULVIHILL, D. M.; MORRIS, E. R. Denaturation and aggregation processes in thermal gelation of whey proteins resolved by differential scanning calorimetry. **Food Hydrocolloids**, v.11, n.4, p. 62-69, 2006.

GOSTON, J. Recursos Ergogênicos Nutricionais: Atualização sobre a Cafeína no Esporte. *Nutrição e Esporte*, p. 6, 2011.

GUERRA, R. O.; BERNARDO, G. C.; GUTIERREZ, C. V. Cafeína e esporte. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, Niterói, v.6, n.2, p.60-62, 2000.

HARAGUCHI, F. K.; ABREU, W. C.; PAULA, H. Proteínas do soro do leite: composição, propriedades nutricionais, aplicações no esporte e benefícios para a saúde humana. **Revista de Nutrição.**, Campinas, v. 19, n. 4, p. 479-488, Aug. 2006.

HASSIMOTTO, N. M. A.; GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Antioxidant activity of dietary fruits, vegetables, and commercial frozen fruit pulps. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v. 53, n. 8, p. 2928- 2935, 2005. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf047894h>>. Acesso em: 20 out. 2018.

HECKMAN, M. A. et al. Caffeine (1, 3, 7-trimethylxanthine) in foods: a comprehensive review on consumption, functionality, safety, and regulatory matters. **Journal of Food Science**. Exclusivo em Meio Eletrônico, p. 84-84. abr. 2010. Disponível em: <<https://goo.gl/dp7eJr>>. Acesso em: 23 abr. 2017.

IBGE. Produção da Extração Vegetal e da Silvicultura. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2016. Disponível em: <<https://goo.gl/7X6QSb>>. Acesso em: 17 maio 2018.

MATTA, V. M. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Bebidas para praticantes de atividades físicas: repositores hidroeletrólitos**. 2009. VIRGINIA MARTINS DA MATTA, CTAA; DAISY BLUMENBERG WOLKOFF, UERJ;

ROBERTO HERMÍNIO MORETTI, UNICAMP. Disponível em: <<https://goo.gl/MvwoRw>>. Acesso em: 30 out. 2018.

NATIONAL NUTRIENT DATABASE FOR STANDARD REFERENCE LEGACY RELEASE. United States Department Of Agriculture (Comp.). **All nutrients of whey**. 2018. Disponível em: <<http://twixar.me/7343>>. Acesso em: 20 out. 2018.

NCI. National Cancer Institute. Nci Thesaurus. **Caffeine**: Code C328. 2015. Disponível em: <<https://goo.gl/hA7VpB>>. Acesso em: 19 abr. 2017

NUNES, R. M. Lácteos e Atividade Física. **Núcleo para Valorização dos Produtos Lácteos na Alimentação Humana**, 2014. Disponível em: <<http://www.nuvlac.com.br/page/espao-do-pesquisador>>. Acesso em: 12 mai. 2018.

RUFINO, M. S. M. et al. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, Barking, v. 121, n. 4, p. 996-1002, 2010. Disponível em: <<http://twixar.me/V343>>. Acesso em: 20 out. 2018.

SANTOS, C.T. et al. Influência da concentração de soro na aceitação sensorial de bebida láctea fermentada com polpa de manga. **Alimentos e Nutrição**. Araraquara, v. 19, n. 1, p. 55-60, jan./mar. 2008. Disponível em: <[https://www.researchgate.net/profile/Rafael\\_Fontan/publication/4984\\_Influencia\\_da\\_concentracao\\_de\\_soro\\_na\\_aceitacao\\_sensorial\\_de\\_bebida\\_lactea\\_fermentada\\_com\\_polpa\\_de\\_manga/links/0b1db0/Influencia-da-concentracao-de-soro-na-aceitacao-sensorial-de-bebida-lactea-fermentada-com-polpa-de-manga.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Rafael_Fontan/publication/4984_Influencia_da_concentracao_de_soro_na_aceitacao_sensorial_de_bebida_lactea_fermentada_com_polpa_de_manga/links/0b1db0/Influencia-da-concentracao-de-soro-na-aceitacao-sensorial-de-bebida-lactea-fermentada-com-polpa-de-manga.pdf)> Acesso em: 01 out. 2018.

SGARBIERI, V. C. Propriedades fisiológicas-funcionais das proteínas do soro de leite. **Revista de Nutrição**, v.17, n.4, p.397-409, 2004.

SILVA, M. (Comp.). **Isolamento da cafeína**. Curso de Engenharia Química - Universidade Federal do Paraná. Disponível em: <<https://goo.gl/zS6t1k>>. Acesso em: 30 out. 2018.

TEIXEIRA, L. V.; FONSECA, L. M. Perfil físico-químico do soro de queijos mozzarella e minas-padrão produzidos em várias regiões do estado de Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. Belo Horizonte, p. 243-250. fev. 2008. Disponível em: <<http://twixar.me/s343>>. Acesso em: 24 out. 2018.

WILLIAMS, H. **Nutrição para a saúde, condicionamento físico e desempenho esportivo**. São Paulo. Manole. 2002.

ZERAIK, Maria Luiza et al. **Maracujá: um alimento funcional?** 2009. 14 p. Artigo (Departamento de Química e Física Molecular). UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, São Carlos, 2010. Disponível em: <<https://goo.gl/BL13Fp>>. Acesso em: 25 out. 2018.

