



André Duarte Morais Guerreiro de Almeida Borralho

Contribuição para desenvolvimento de suplemento alimentar proteico e antioxidante produzido a partir de subprodutos da indústria alimentar

Dissertação de Mestrado em Segurança Alimentar, orientada pelo Professor Doutor Fernando Ramos e pela Professora Doutora Marta Henriques e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Setembro 2015



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

André Duarte Morais Guerreiro de Almeida Borralho

Contribuição para desenvolvimento de suplemento alimentar proteico e antioxidante produzido a partir de subprodutos da indústria alimentar

Dissertação de Mestrado em Segurança Alimentar, orientada pelo Professor Doutor Fernando Ramos e pela Professora Doutora Marta Henriques e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Setembro 2015



Agradecimentos

Agradeço ao Professor Doutor Fernando Ramos, orientador deste trabalho, que permitiu desde o início que tudo fosse possível, arranjando parecerias, tanto empresariais como com outras instituições de ensino. O acompanhamento e apoio que prestou, sempre que necessários, foram também fulcrais para o sucesso do trabalho.

À Professora Doutora Marta Henriques, também orientadora do trabalho. Foi sem dúvida essencial para o desenvolvimento do mesmo. Mostrou-se incansável e sempre disponível para me ajudar, fazendo uma revisão crítica e contínua desde o início do projeto, apoiando o meu trabalho prático sempre que necessário e respondendo sempre a todas as minhas questões.

À Professora Doutora Inês Seabra pelo apoio incondicional que me prestou no laboratório.

Ao Senhor Jorge Viegas que me acompanhou em grande parte do tempo na minha investigação laboratorial.

À Universidade de Coimbra e à Escola Superior Agrária de Coimbra que permitiram que tudo fosse possível.

À empresa Valmaques, Lda, que forneceu os morangos para os trabalhos experimentais.

Ao Senhor André, da empresa Valmarques, Lda, que se mostrou pronto em ajudar e tirar todas as dúvidas necessárias acerca da produção de morangos.

Ao Professor David que me tirou grande parte das dúvidas relativas ao soro de leite.

Ao Filipe Carvalho pelo apoio prestado.

Ao Holmes Place de Coimbra que permitiu o inquérito no seu espaço.

À Diana Vieira pela câmara.

Sinto-me eternamente grato a todos os que permitiram que concluísse mais uma etapa da minha vida. Muito obrigado!

Não poderia deixar passar este momento marcante da minha vida sem aproveitar para fazer um agradecimento especial aos meus pais e avós pelos esforços extra que têm feito por mim.

Ao João Sérgio, à Inês e aos meus amigos mais chegados, muito obrigado pelo apoio e amizade incondicional.

Resumo

O ritmo de vida acelerado dos dias de hoje juntamente com as novas ideologias de estilo de vida saudável, influenciam diretamente o mercado mundial dos suplementos alimentares. A procura é cada vez maior e as especificidades requeridas também.

Este trabalho traduz a contribuição feita para a possibilidade de desenvolvimento de um suplemento alimentar que suprisse simultaneamente duas necessidades nutricionais, a proteica e a antioxidante, que são atualmente apresentadas no mercado em produtos separados. Uma das mais-valias do produto seria que todo o seu desenvolvimento seria feito a partir de subprodutos da indústria alimentar, nomeadamente de laticínios e de hortofrutícolas. Analisaram-se química e fisicamente amostras de morango desidratadas por secagem e liofilização e os produtos decorrentes do processamento do soro de leite (soro inteiro, soro desnatado e concentrados de proteínas de soro).

Com foco direto no reaproveitamento e valorização, o desenvolvimento deste suplemento iria criar alternativas importantes para produtos frutícolas sem atual uso industrial e ainda arranjar destino para um dos subprodutos da indústria dos laticínios, o soro, um dos principais poluentes ambientais da atualidade. Tratar-se-ia de um produto com elevada procura no mercado, baixo custo de produção e elevado preço de venda, tornando-o bastante atrativo do ponto de vista económico e produtivo.

Este trabalho demonstra de forma nítida que é possível criar um suplemento proteico e antioxidante competitivo, com um preço de venda mais reduzido e com as características desejadas, utilizando métodos de secagem e reaproveitando matérias-primas desvalorizadas pela indústria. No entanto, mais trabalho de investigação deve ser feito neste sentido, de forma a otimizar os processos de fabrico e a validar a tecnologia a utilizar.

Palavras-chaves: Suplemento alimentar, atividade física, proteínas de soro, antioxidantes, valorização de subprodutos alimentares, morangos, soro de leite.

Abstract

The fast pace of life that we live today along with the new healthy lifestyle ideologies acquired, directly influenced the world of supplements market. Demand is increasing and the specifics required as well.

In this work was tested the possibility of creating a food supplement that met two additional nutritional needs, protein and antioxidant simultaneously, which are currently presented in separate products. One of the added values of the product would be that any development would be made from by-products of food dairy industry and horticultural.

Chemically and physically dehydrated strawberry were analyzed by drying and lyophilisation processes and the products resulting from the processing of whey (Full whey, concentrated whey and skimmed whey proteins). Focusing on direct reuse and recovery, the possible development of this supplement would create important alternatives to fruit products with no actual industrial use and still get destination for one of the dairy industry by-products, one of the major environmental pollutants of today.

Economically it is a product with high demand, low production costs and high retail price, making it very attractive from an economic and productive point of view.

This work demonstrates clearly illustrated that it is possible to create a competitive protein and antioxidant supplement with a lower selling price and with the desired characteristics, using methods of drying and reusing raw materials devalued by the industry. However, more research work needs to be done in this regard, in order to optimize the manufacturing processes and validate the technology to be used.

Keywords: Food supplement, physical activity, whey proteins, antioxidants, food by-products valorisation, strawberries, whey.

Índice

Agradecimentos	ii
Resumo	iv
Abstract	v
Índice de figuras.....	viii
Índice de tabelas.....	ix
Abreviaturas.....	x
Capítulo I.....	1
Introdução geral.....	1
I.1. Suplementos alimentares: conceitos e evolução.....	2
I.2. O Suplemento Alimentar	3
I.3. Suplementação desportiva	4
I.4. Necessidades proteicas.....	6
I.5. Necessidades antioxidantes	7
Capítulo II.....	9
II.1. Contextualização do projeto	10
II.2. Soro de leite.....	10
II.3. Morango.....	13
II.4. Desperdício Alimentar vs Poluição Ambiental.....	15
II.5. Reaproveitamento e valorização de morangos sem características para consumo em fresco e do soro de leite.....	17
II.6. O suplemento proteico e antioxidante.....	20
Capítulo III.....	21
III.1. Preparação das amostras de morangos	22
III.1.1. Morango <i>in natura</i>	23
III.1.2. Morango desidratado.....	24
III.1.3. Morango liofilizado	24
III.2. Métodos de caracterização das amostras de morangos.....	25

III.2.1. °Brix.....	25
III.2.2. pH e acidez titulável.....	25
III.2.3. Humidade	25
III.2.4. Atividade da água (a_w).....	26
III.2.5. Análise da cor.....	26
III.2.6. Capacidade antioxidante.....	26
III.2.6.1. Determinação do teor de compostos fenólicos	27
III.2.6.2. Determinação da atividade antioxidante.....	28
III.3. Preparação das amostras de soro de leite	29
III.3.1. Métodos de caracterização dos produtos à base de soro	31
III.3.1.2. Acidez titulável.....	32
III.3.1.3. Humidade relativa, sólidos totais e cinzas	32
III.3.1.4. Proteínas.....	33
III.3.1.5. Gordura.....	33
III.3.1.6. Hidratos de carbono	34
III.4. Estudo de mercado para avaliar a aceitação do produto	34
Capítulo IV	37
IV.1. Caracterização físico-química das amostras de morango	38
IV.2. Caracterização físico-química das amostras recolhidas durante a produção do CLPS	42
IV.3. Análise às respostas dadas pelos inquiridos	45
Capítulo V.....	47
Conclusão.....	47
Capítulo VI	51
Bibliografia	51

Índice de figuras

Figura 1 - Constituintes de um suplemento alimentar	4
Figura 2 - Tipos de suplementos alimentares desportivos	5
Figura 3 - Compostos formadores de complexos antioxidantes.....	8
Figura 4 - Esquema de processo de ultrafiltração (Hoffman, 2003).....	12
Figura 5 - Nova roda dos alimentos (DGS, 2014).....	14
Figura 6 - Desperdício total estimado de alimentos na UE em 2010 (Royte, 2014).....	16
Figura 7 - Esquema do processo de preparação das amostras de morango in natura, desidratado e liofilizado e respetivas quantidades (g) processadas e obtidas.	23
Figura 8 - Análises laboratoriais efetuadas.	24
Figura 9 - Curva de calibração para a análise do teor de compostos fenólicos	28
Figura 10 - Curva de calibração para a análise da atividade antioxidante.....	29
Figura 11 - Esquema da produção dos concentrados de proteína de soro (CLPS).....	30
Figura 12 - Processo de ultrafiltração esquematizado.....	31
Figura 13 - Análises feitas às amostras de soro.	31
Figura 14 - Caracterização dos inquiridos por género de acordo com os locais selecionados.	35
Figura 15 - Média de idade dos inquiridos em função do género e local do questionário.	35
Figura 16 - Amostras de morango liofilizado e desidratado	41

Índice de tabelas

Tabela 1 - Composição do soro de leite (Domingues <i>et al.</i> , 1999).	10
Tabela 2 - Recolha e transformação de leite de vaca em Portugal (INE, 2015).	11
Tabela 3 - Períodos do ano e a oferta de morangos em Portugal (Oliveira, 2007).	13
Tabela 4 - Conteúdo de vitaminas lipossolúveis e hidrossolúveis em 100 gramas de morango (Quinato <i>et al.</i> 2007).	14
Tabela 5 - Quebras diárias de morangos (kg/dia) face à produção na empresa Valmarques, Lda., nas várias épocas do ano.	17
Tabela 6 - Valores máximos admissíveis para as águas residuais industriais descarregadas nos coletores públicos pela Câmara Municipal de Celorico da Beira (Costa, 2011).	19
Tabela 7 - Preço por quantidade em loja de <i>whey protein</i> e suplemento antioxidante.	20
Tabela 8 - Inquérito realizado	34
Tabela 9 - Parâmetros físico-químicos do morango <i>in natura</i> , desidratado e liofilizado (Média ± desvio padrão).	38
Tabela 10 - Análise da cor, L*a*b* (Média±DP).	40
Tabela 11 - Capacidade e atividade antioxidante (teor de compostos fenólicos (TF) e ic50). Média ± Desvio Padrão e CV- coeficiente de variação.	42
Tabela 12 - Caracterização físico-química do soro inteiro, desnatado e dos CLPS (Média ± desvio padrão).	43
Tabela 13 - Resultados expressos em percentagens do inquérito realizado.	45

Abreviaturas

a_w – atividade da água, do inglês *water activity*

CBO – carência bioquímica de oxigênio

C Comercial – centro comercial

CLPS – concentrados líquidos de proteínas de soro

CQO – carência química de oxigênio

CV – coeficiente de variação

E.U.A – Estados Unidos da América

FAO – Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura, do inglês, *Food and Agriculture Organization of the United Nations*

IFPRI – do inglês, *International Food Policy Reserch Institute*

INE – Instituto Nacional de Estatística

NP – Norma Portuguesa

pH – potencial de hidrogénio

ppm – partes por milhão

s.d. – sem data

SST – sólidos suspensos totais

TF – teor de fenólicos

UE – União Europeia

UF – ultrafiltração

WHO – Organização mundial de saúde, do inglês, *World Health Organization*.

Capítulo I

Introdução geral

I.1. Suplementos alimentares: conceitos e evolução

Entre os anos 60 e finais dos anos 70, predominava a ideia de que hábitos tabágicos, alcoólicos e até mesmo de uso de drogas, eram sinónimos de liberdade. A “geração Hippie”, como era intitulada na altura, era fortemente influenciada pelos “grandes nomes”, muito idolatrados na época, as chamadas “estrelas do rock”, sendo o seu estilo de vida tudo menos o que hoje em dia é considerado saudável (Macrae, 1998).

Os anos 80 são ditos por muitos estudiosos como um marco histórico em relação aos cuidados com a saúde. Foi nesta altura que nasceu a denominada “geração saúde”. Aqui, tentou-se ao máximo contrariar o que até à data era considerado bom e divertido. Campanhas de sensibilização foram lançadas com o objetivo de mostrar o outro lado da moeda, por assim dizer. Começou-se a publicitar e a levar ao estrelato outro tipo de pessoas. Os desportistas começaram a ter um grande foco, sendo considerados como “o exemplo a seguir”.

Foi aí que se deu um aumento significativo da criação de ginásios. O culto do corpo, a beleza, a juventude e a saúde foram e são termos que cada vez têm mais preponderância nos dias de hoje (Greenwood *et al.*, 2008). Chegámos a um ponto onde a imagem do indivíduo tem influência direta na sua seleção durante uma entrevista de emprego, por exemplo. Esta mentalidade e atual situação sociocultural dos países desenvolvidos, onde a imagem é cada vez mais valorizada, trouxeram também uma maior afluência aos ginásios, que por sua vez provocou um crescimento exponencial do mercado da suplementação nutricional e que veio apoiar fortemente a população nesta “luta” contra o sedentarismo e consequente aumento de peso (Greenwood *et al.*, 2008). Assim, face à importância que os suplementos adquiriram torna-se necessária a sua evolução e melhoramento constantes, no sentido de se tornarem cada vez mais eficazes.

Não é uma tarefa fácil, aproximar-se (pelo menos) desse objetivo, tendo em consideração os níveis e tipos de alimentação atuais. Presenciamos uma época em que a sobrenutrição e o desnível das diferentes secções da roda dos alimentos são uma realidade, o que dificulta muito a tarefa de alcançar “o corpo ideal”. O nível de *stress* e o elevado número de horas de trabalho, que provocam uma queda nas horas de sono diárias, são também um obstáculo (Galani, 2012). Assim, devido a todos estes constrangimentos evoluiu-se para um novo conceito: suplemento alimentar. Trata-se de um produto em evolução no mercado e cada vez com mais procura. Tem como objetivo solucionar alguns dos obstáculos referidos anteriormente, no sentido de complementar a dieta com o que ficou em falta ou

ajudar a eliminar o que foi consumido em excesso durante a ingestão normal de alimentos (Aranha, 2011). No caso da suplementação desportiva, o objetivo fulcral passa por fornecer nutrientes essenciais (proteínas, hidratos de carbono e vitaminas) a fim de melhorar a performance desportiva.

A importância dos suplementos alimentares nas nossas vidas é cada vez maior, servindo já de “bengala” em muitas das dietas existentes na atualidade. Dietas hipercalóricas e com baixa diversidade de ingestão de nutrientes necessitam de maior apoio. Por outro lado, também certos doentes estão a ser auxiliados nos seus tratamentos com suplementos alimentares. Problemas como vesícula preguiçosa são tratados com suplementos de alcachofra, ou até mesmo anemia com a suplementação em ferro, são apenas alguns dos exemplos (Aranha, 2011). Outro caso importante é o de doentes internados, que muitas das vezes durante as suas refeições tomam produtos com adição de suplementos alimentares (bebida enriquecida com proteína, por exemplo).

A nível desportivo, a competitividade e a exigência requeridas aos atletas são cada vez maiores. Treinos bi-diários e com aumento de duração são uma realidade de intensidade e carga de trabalho impossíveis de aguentar por parte de qualquer ser humano sem o apoio de suplementos alimentares (Rocha e Pereira, 1998).

1.2. O Suplemento Alimentar

Segundo o decreto de lei nº136/2003 de 28 de Junho de 2003, um suplemento alimentar define-se como um género alimentício que se destina a complementar e ou suplementar o regime alimentar normal. Trata-se de fonte concentrada de substâncias com efeito nutricional ou fisiológico que podem ser isoladas ou combinadas e que devem ser comercializadas de forma doseada. Podem ser apresentados sob a forma de cápsulas, pastilhas, comprimidos, pílulas, frascos com conta-gotas, entre outros, com a especificidade de deverem ser tomados em unidades de medida de quantidade reduzida.

Um suplemento alimentar, para que possa ser denominado como tal, tem de possuir pelo menos um dos seguintes constituintes: macronutrientes (proteínas, hidratos de carbono e lípidos), micronutrientes (vitaminas hidrossolúveis e lipossolúveis e minerais), aminoácidos e extratos concentrados de plantas medicinais (Figura 1). Mediante a sua finalidade assim será a sua composição.



Figura 1 - Constituintes de um suplemento alimentar.

Existem dois objetivos principais no ramo da suplementação, que são o uso terapêutico e o melhoramento da condição física (emagrecimento ou aumento de massa muscular) (Duarte *et al.*, 2011). Neste trabalho a ênfase será dada à performance física, isto é, ao melhoramento da condição física, nomeadamente para desportistas e frequentadores de ginásios.

1.3. Suplementação desportiva

Dentro deste ramo, a originalidade e a evolução do conhecimento científico por parte dos desportistas e dos nutricionistas que os acompanham tem feito com que haja uma cada vez maior interação e combinação de nutrientes. Assim, hoje em dia, quando se fala de suplementação desportiva não se tem em consideração apenas fatores energéticos como no passado, mas sim um vasto leque de necessidades e características específicas de um indivíduo. A dieta é feita exclusivamente para o indivíduo em causa, e tem em conta dados socioculturais (como idade, género, raça, clima, etc.), e dados físicos pessoais como peso, altura, índice de massa corporal, percentagem de gordura e de água do corpo e massa óssea. É de notar que são já muitos os elementos em estudo para uma dieta, considerando que as

poucas dietas que existiam no passado, eram feitas tendo como base o peso e a altura (Silva, 2012).

Também o termo “dieta” tem sofrido alterações ao longo do tempo. No passado, “dieta” significava privação total ou parcial de determinados alimentos ou nutrientes. Hoje, a palavra ganhou também um novo sentido, segundo o Dicionário da Língua Portuguesa com acordo ortográfico, define-se como “um regime alimentar que satisfaz as necessidades particulares de uma pessoa”. Basicamente o significado da palavra transformou-se por completo, passando de uma proibição alimentar a uma satisfação de necessidades.

Dentro do ramo da suplementação desportiva, existem vários subgrupos, ou seja, diversos tipos de suplementos (Figura 2) com diferentes objetivos: hipercalóricos, termogénicos, proteicos e antioxidantes.

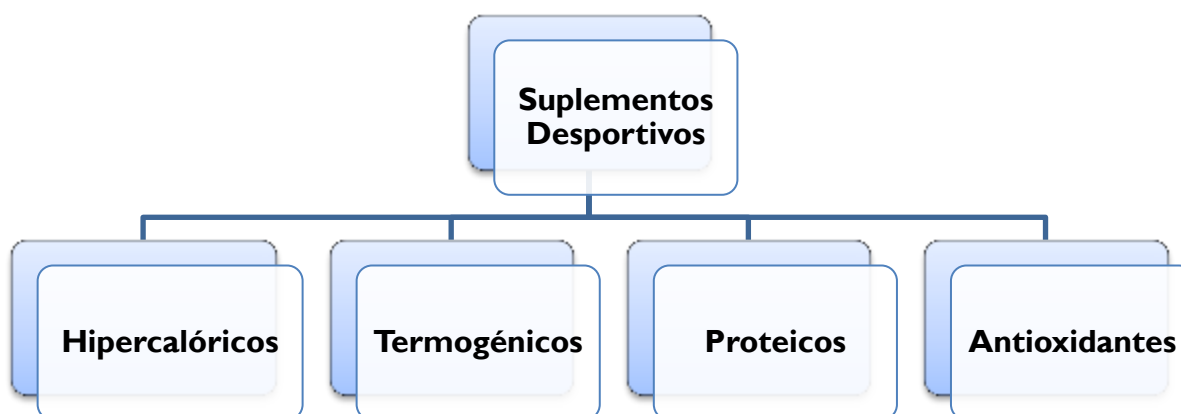


Figura 2 - Tipos de suplementos alimentares desportivos.

Os suplementos hipercalóricos caracterizam-se pelo seu elevado valor energético, têm como objetivo um aumento de massa corporal e são normalmente constituídos por hidratos de carbono e aminoácidos essenciais. Os termogénicos são constituídos muitas vezes por extratos de plantas e servem para acelerar o metabolismo corporal, ação que está diretamente relacionada com a perda de peso por via de eliminação de gordura (Cardoso, et al., 2010). Quanto aos suplementos proteicos, são todos os que possuem compostos de aminoácidos essenciais ao processo de formação muscular (Marangon, e Melo, 2004). Por fim o consumo de suplementos antioxidantes em atletas tem como principal objetivo o “combate” aos radicais livres formados pela atividade física, estes são constituídos essencialmente por vitaminas (Bianch, e Antunes, 1999).

Como referido anteriormente, existem vários tipos de suplementos e não se devem tomar sem conhecimento específico. Cada um deles tem uma função e a sua utilidade e eficácia está condicionada a uma variada gama de fatores intrínsecos e extrínsecos do consumidor. Tudo isto faz com que a toma de alguns suplementos por parte de uma pessoa em particular possa ser completamente inútil, ou porque pode estar a acrescentar excessivamente nutrientes que já obtém pela alimentação, ou porque a toma do suplemento em questão não está a ser correta.

São muitos os fatores que influenciam o correto consumo de um suplemento. Focando apenas o momento de consumo, por exemplo, as condicionantes que tem para que seja corretamente aplicado são bastantes (Read e Graney, 1982). Pode ter que ser tomado antes, após ou até mesmo durante o treino. Pode também depender das horas de sono, por exemplo ao acordar ou antes de dormir, e até existe a possibilidade do próprio estado físico influenciar a hora a que deve ser consumido.

Torna-se claro que a educação nutricional é cada vez mais uma necessidade a fim de evitar problemas que possam surgir de um mau consumo de suplementos. A sociedade tem que estar preparada e informada para analisar uma vasta gama de produtos que existem no mercado e com cada vez maior facilidade de acesso (Read e Graney, 1982). Caso contrário, podemos estar a assistir a um efeito antagónico ao que efetivamente se pretende, onde as verdadeiras necessidades nutricionais de cada pessoa não estão a ser supridas.

I.4. Necessidades proteicas

O mercado dos suplementos está cada vez mais evoluído e abrangente, por isso é necessário um controlo correto do que se ingere e das doses tomadas. A investigação das necessidades proteicas tem sido constante, com o objetivo de alcançar o valor para a dose ideal, não só para atletas como também para pessoas que não pratiquem qualquer tipo de exercício (Cabaça, 2014).

No passado, admitia-se que apenas os desportistas profissionais tinham grandes necessidades proteicas. Contudo, o conhecimento científico provou que os treinos de força e hipertrofia muscular (outrora apenas aplicados a atletas) são muito benéficos para qualquer pessoa, incluindo idosos. Este tipo de treinos são os chamados treinos de resistência muscular, que para além de aumentarem a massa muscular, ao serem executados com

alguma regularidade também impedem os fatores resultantes de sedentarismo, a atrofia muscular e aumento da massa gorda (Aires, 2010).

Assim, é cada vez mais aconselhável para qualquer pessoa, independentemente da idade, sexo, estatura ou profissão, uma execução semanal de treinos hipertróficos. Este tipo de treinos necessita de um controlo constante. Se a execução não estiver a ser correta (séries, repetições, cargas, velocidade de execução, técnica de execução, respiração) os resultados não serão alcançados e problemas físicos podem começar a surgir (Young e Bilby, 1993). Além disto, para haver a desejada hipertrofia muscular, não é apenas necessário cumprir à risca um plano de treino correto, é imprescindível também ingerir as quantidades necessárias de proteínas para o organismo (Tang e Phillips, 2009).

Por outro lado, o crescimento muscular implica a acumulação de proteínas no músculo, e por isso é necessário que haja um aumento da síntese proteica. Tudo funciona como um saldo entre o que é degradado ao executar o plano de treino muscular e no decorrer natural do dia-a-dia, e o que é sintetizado pela quantidade consumida. Se o saldo for positivo (síntese proteica maior que a degradação), o exercício físico de força vai estimular o metabolismo proteico muscular, fazendo crescer o músculo (Tang e Phillips, 2009). Tudo isto faz com que o conceito de “necessidade proteica” seja variável tendo em consideração o indivíduo em causa. Estima-se que um atleta de alta competição necessite cerca de cinco vezes mais que uma pessoa sedentária sem hábitos desportivos, e três vezes mais do que uma pessoa com algum hábito desportivo (treinos três vezes por semana). Como tal, e vista a importância do consumo proteico para o sucesso do desenvolvimento muscular, torna-se evidente que deve haver especial atenção com o consumo de proteínas (Aires, 2010).

I.5. Necessidades antioxidantes

O aumento do consumo de oxigénio causado pela prática de exercício físico intenso é responsável pela produção de radicais livres, que são moléculas muito instáveis e reativas sem um par de eletrões. Um radical ao reagir com um não-radical produz um novo radical livre. Quando são ativados, podem causar processos traumáticos nos tecidos musculares que são acompanhados por um processo inflamatório, fatores estes que provocam uma redução da função muscular, alterações histológicas e ainda dores musculares (Navas e Córdova, 2000).

Contudo, foi provado que as vitaminas A, E e C juntamente com minerais de zinco formam complexos atenuadores das reações produtoras de radicais livres (Figura 3), uma vez que reduzem o efeito do *stress* oxidativo e da falta de oxigênio (Navas e Córdova, 2000).

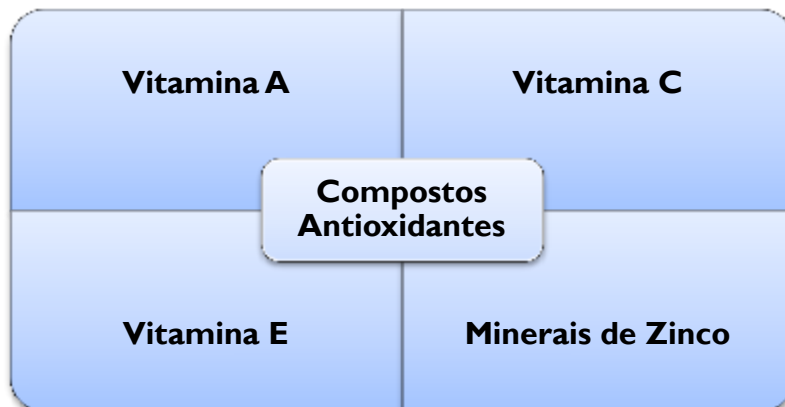


Figura 3 - Compostos formadores de complexos antioxidantes.

Por outro lado, se o indivíduo estiver apto a suportar uma carga de exercício diária, o mesmo vai produzir intrinsecamente mecanismos antioxidantes, isto porque o corpo humano produz enzimas como a glutaciona-peroxidase, superóxido-dismutase e a catalase, com atividade antioxidante muscular. Para além disto, também há estudos que apontam para um aumento plasmático de tocoferol, ácido ascórbico e ácido úrico, que têm também uma potencial atividade antioxidante. A dificuldade é estabelecer o treino e cargas corretas para que se produzam as quantidades corretas de compostos com capacidade antioxidante. No entanto, pode ser mesmo impossível se falarmos de desportistas de alta competição. Pois os níveis de carga são muito superiores aos aceitáveis para que o corpo atue de forma correta contra os radicais livres, sendo por isso necessária a suplementação antioxidante na maioria das vezes (Navas e Córdova, 2000).

Tendo em conta o esforço do indivíduo em causa, seja ele atleta ou não e que pretenda manter-se em forma, irá ter necessidades proteicas. Todavia, esse aspeto não será o único a ter em consideração, uma vez que as suas fibras musculares estarão a ser afetadas continuamente pela presença de radicais livres, que pode ser minimizado com a ingestão de suplementos ricos em vitaminas.

Capítulo II

Objetivo do projeto

II.1. Contextualização do projeto

Este trabalho teve como objetivo planejar um suplemento que consiga suprir simultaneamente as principais necessidades proteicas e antioxidantes de um praticante de exercício físico regular.

Para tal serão utilizados dois subprodutos da indústria alimentar: o soro de leite e morangos sem as características necessárias para a venda em fresco. A vertente proteica será fornecida pelas proteínas do soro e para a antioxidante os morangos. Pretende-se por isso criar um produto com valor acrescido, à base de subprodutos da indústria alimentar, reaproveitando-os e valorizando-os com a possibilidade de criar um suplemento, possivelmente, a preços mais acessíveis e competitivos.

II.2. Soro de leite

O soro de leite é um dos principais resíduos da indústria de lacticínios, representa a fase aquosa, de cor amarelo-esverdeado que se obtém após a formação do coágulo durante o fabrico de queijo e constitui cerca de 85 a 95% do volume total de leite utilizado na produção de queijo (Brites, 2012). A sua composição depende do tipo de queijo produzido. Na Tabela I é apresentada a composição média do soro de leite de vaca.

Tabela I - Composição do soro de leite (Domingues *et al.*, 1999).

	Concentração (%)
Água	93-94
Lactose	4,5-5,0
Proteínas	0,8-1,0
Minerais	0,5-0,7
Gordura	0,1-0,5

Este efluente representa um elevado risco para o meio ambiente devido às suas características, pois tem elevada carga orgânica sendo de difícil biodegradação. Isto é, os microrganismos não o conseguem utilizar diretamente como fonte de energia (Domingues *et al.*, 1999) porque possui uma demanda bioquímica de oxigénio de 30.000 a 50.000 ppm (Hoffmann, 2003). Este facto impede também a sua introdução num processo comum de tratamento de efluentes (Domingues *et al.*, 1999).

Atualmente, a nível industrial são produzidos diariamente milhares de litros de soro (Domingues *et al.*, 1999) uma vez que por cada quilograma de queijo elaborado são gerados cerca de nove litros desse subproduto (Oliveira, 2012).

A tabela 2 apresenta os dados mensais registados no INE acerca da recolha e transformação do leite de vaca. Analisando a produção de queijo, foram produzidas 57602 toneladas em 2014. Sabendo que são gerados nove litros por quilograma de queijo temos um total de aproximadamente 518 418 000 litros de soro produzidos anualmente e que precisam de tratamento.

Tabela 2 - Recolha e transformação de leite de vaca em Portugal (INE, 2015).

Recolha e transformação do leite de vaca														
Portugal	Ano	jan	fev	mar	abr	mai	jun	jul	ago	set	out	nov	dez	Total
Recolha														
Leite de vaca	2014	152 095	142 837	165 982	165 581	173 646	163 019	160 231	152 954	143 106	146 515	143 672	146 515	1 856 153
	2015	159 827	151 330	174 999	175 664	180 975	171 437							
Produtos lácteos	2014	92 196	84 244	94 909	99 325	101 545	88 075	94 860	90 205	85 203	83 612	75 840	83 612	1 073 627
	2015	85 699	74 288	89 641	95 547	94 717	86 698							
Leite para consumo	2014	72 227	66 489	76 553	77 887	78 489	67 100	72 876	70 179	64 540	63 532	57 897	63 532	831 301
	2015	66 539	57 052	69 353	74 033	73 061	64 892							
Nata para consumo	2014	1 777	1 361	1 756	1 868	1 718	1 586	1 554	1 748	1 526	1 697	1 786	1 697	20 073
	2015	1 520	1 430	1 664	1 924	1 595	1 431							
Leite em pó gordo e meio gordo	2014	696	583	741	663	1 027	626	813	732	588	486	765	486	8 196
	2015	520	567	736	815	785	658							
Leite em pó magro	2014	372	414	720	1 277	1 263	1 686	1 089	743	585	848	848	848	10 693
	2015	1 136	1 483	1 814	1 978	2 009	1 903							
Manteiga	2014	2 288	2 066	2 310	2 684	2 669	2 555	2 479	2 409	2 379	2 252	1 607	2 252	27 950
	2015	2 668	2 454	2 792	3 095	2 995	2 985							
Queijo	2014	4 442	4 094	4 442	4 992	5 337	4 807	5 003	4 566	5 100	5 077	4 665	5 077	57 602
	2015	4 445	4 336	4 709	4 478	4 921	5 107							
Leites acidificados	2014	10 405	9 238	8 387	9 954	11 042	9 713	11 046	9 828	10 485	9 721	8 273	9 721	117 814
	2015	8 873	6 965	8 574	9 225	9 352	9 724							

Nota: Dados recolhidos pelo Inquérito mensal ao leite de vaca e produtos lácteos

Dado o significativo volume deste efluente, o seu elevado valor nutricional bem como a sua carga poluente, existe a necessidade de aproveitar e valorizar este subproduto, para simultaneamente o tratar e o valorizar (Oliveira, 2012).

Sabe-se que no que toca às águas residuais provenientes do ramo de queijaria nacional, 42% das queijarias têm licença para rejeição das águas produzidas, 13% têm indicação para descarga no solo, 62% têm indicação de descarga para linha de água e 6% foram indicados para descarga no coletor municipal (Costa, 2011) mas os requisitos legais em termos de composição de efluentes e limites máximos admissíveis terá de ser respeitada. Existe portanto, um potencial de valorização do soro muito elevado em Portugal e que não está minimamente a ser explorado.

As proteínas presentes no soro têm elevado valor nutritivo, superior ao das proteínas da clara do ovo, são muito ricas em aminoácidos essenciais, têm elevada digestibilidade e elevada atividade biológica (Hoffmann, 2003).

O soro de leite é amplamente utilizado no enriquecimento de alimentos sejam eles destinados ao consumo humano como ao consumo animal (Brites, 2012). Pode ser utilizado na forma de soro em pó ou concentrados desidratados de proteínas de soro com vários teores de proteínas que podem ir dos 35% aos 90%. No caso do soro em pó, existe a possibilidade de ser utilizado na alimentação animal de bovinos e suínos, e como aditivo em produtos de padaria e pastelaria. Pode ainda ser utilizado em indústrias farmacêuticas e químicas para produção de suplementos ou produtos enriquecidos com proteína (Oliveira, 2011).

Para a obtenção de concentrados de proteína de soro, o soro inteiro pode ser ultrafiltrado (Figura 4), em que a água, a lactose, aminoácidos livres, ácido láctico e algumas vitaminas hidrossolúveis passam através da membrana formando assim o permeado (também designado filtrado). A membrana retém os compostos de elevado peso molecular como o são as proteínas e a gordura constituindo o concentrado que pode ser posteriormente desidratado, dando origem ao denominado concentrado proteico de soro (Hoffmann, 2003).

A ultrafiltração baseia-se na diferença de pressão entre os dois lados da membrana (interior e exterior) e por isso não necessita de temperaturas elevadas, os gastos energéticos não são muito elevados quando comparados com os do processo de concentração por evaporação.

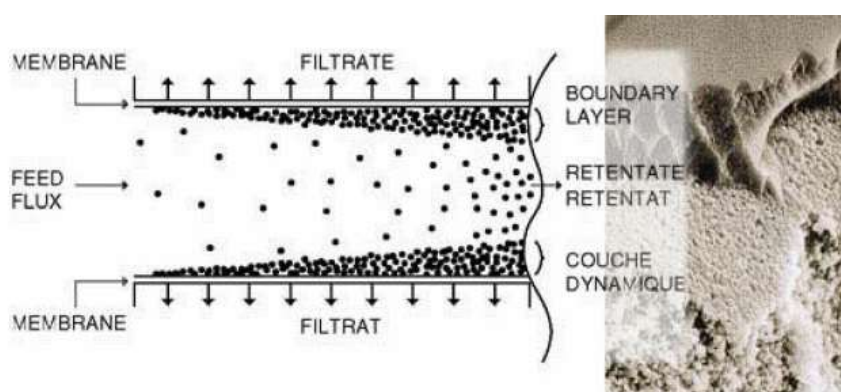


Figura 4 - Esquema de processo de ultrafiltração (Hoffman, 2003).

Os benefícios das proteínas provenientes do concentrado do soro têm sido muito estudados. Um dos principais é o seu alto valor biológico. A suas proteínas são constituídas por uma grande quantidade de aminoácidos essenciais, onde se destaca a leucina, que se

carateriza por estimular a síntese proteica (Haraguchi *et al.*, 2006). Também a velocidade de absorção tem sido muito referida como a principal vantagem deste tipo de proteínas, Estas são as mais rapidamente absorvidas pelo nosso organismo. Esta propriedade permite que sejam consideradas mais eficazes que outras no processo de crescimento muscular, uma vez que podem fornecer mais rapidamente ao corpo as necessidades proteicas que ele necessita logo após um treino físico. Dentro de um vasto leque de benefícios, destacam-se também a redução do catabolismo proteico e da gordura corporal (Haraguchi *et al.*, 2006).

II.3. Morango

Os morangos são os frutos de uma espécie de plantas herbáceas da família *Rosaceae*, denominada como *Fragaria vesca*. A parte usualmente denominada de fruto é designada como sendo um pseudo-fruto, porque apesar de ser volumoso e suculento, ele tem origem do recetáculo da flor (Ferla *et al.*, 2007). O seu cultivo requer um clima temperado, daí que em Portugal as zonas principais de produção são o Alentejo e o Algarve (Palha, 2007). Em Portugal o morango é produzido durante todo o ano, contudo existem alturas de maior oferta que correspondem aos meses de Abril a Junho (Tabela 3). A oferta média ocorre entre os meses de Fevereiro e Março e também no mês de Julho. Já o valor mínimo é alcançado nos restantes meses, entre Setembro e Janeiro (Palha, 2007).

Tabela 3 - Períodos do ano e a oferta de morangos em Portugal (Oliveira, 2007).

Oferta	Período
Máxima	De Abril a Junho
Média	Fevereiro a Março e Julho
Mínima	Restantes meses

Os morangos são uma importante fonte de vitaminas, destacando-se a vitamina C (Quinato *et al.*, 2007). A tabela 4 indica os valores das vitaminas lipossolúveis e hidrossolúveis presentes nos morangos. Das lipossolúveis encontram-se as vitaminas A, E, equivalente de β -caroteno. Das restantes lipossolúveis o morango apenas não possui vitamina D e retinol mas é uma das fontes importantes de vitamina A na nossa dieta. Das hidrossolúveis apenas não contém vitamina B12, mas neste parâmetro o destaque vai para a

quantidade de vitamina C (70 mg/100 g) valor superior ao da laranja (53 mg/100 g) (Quinato *et al.*, 2007).

Tabela 4 - Conteúdo de vitaminas lipossolúveis e hidrossolúveis em 100 gramas de morango (Quinato *et al.*, 2007).

Vitaminas	Vit. A	Vit. B6	Vit. C	Vit. E	Tiamina	Riboflavina	Niacina	Ác. pantotênico	Eq β-caroteno
Morango	3,00 µg	0,06 mg	70,00 mg	0,2 mg	0,02 mg	0,03 mg	0,5 mg	0,34 mg	40 µg

Nos dias de hoje as características apreciadas pelos potenciais compradores na hora de adquirir um produto alimentar são na sua maioria as visuais e olfativas. Quando falamos de fruta, a situação é exatamente essa (Vieites *et al.*, 2006). O papel da fruta na nossa alimentação é fundamental (Quinato *et al.*, 2007). Segundo a nova roda dos alimentos, a fruta está entre os três grupos de alimentos que devem ser mais consumidos diariamente, cerca de 20% da totalidade dos alimentos ingerida (Figura 5) (DGS, 2014).

Sabe-se que os pequenos frutos possuem compostos bioativos que quando consumidos de forma regular, podem ser benéficos à saúde, como é o caso das antocianinas, compostos fenólicos e carotenóides (Quinato *et al.*, 2007). Estes compostos possuem capacidade antioxidante que está diretamente relacionada com a prevenção de certas doenças e problemas de saúde (Quinato *et al.*, 2007).

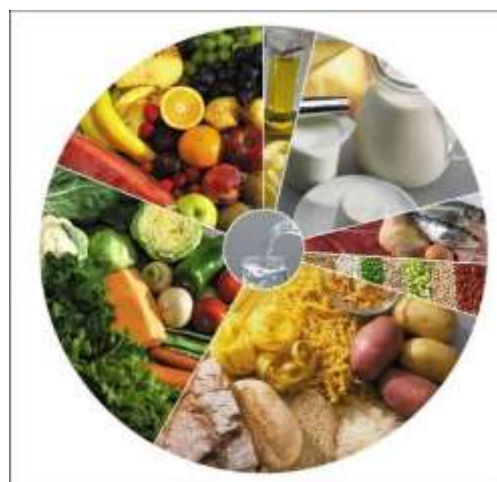


Figura 5 - Nova roda dos alimentos (DGS, 2014).

O morango é um fruto que possui bastantes compostos fenólicos, para além disso é um dos alimentos mais ricos em ácido ascórbico. A atividade antioxidante do morango é considerada como sendo uma das maiores da gama alimentar (Vizzotto, 2012). Foi demonstrado que a suplementação com extratos de morango tem a capacidade de inibir a proliferação de células cancerígenas de cancro no fígado, dependendo o efeito da dose e da espécie de morango utilizada. Pressão arterial elevada, hiperglicemia e inflamação são fatores de risco que o morango também pode ajudar a reduzir (Vizzotto, 2012).

Os morangos são o exemplo de um produto comprado instintivamente devido à sua cor vermelha e ao cheiro envolvente (Vieites *et al.*, 2006). Contudo, são frutos muito frágeis e perecíveis (Braga, 2012) que têm um tempo máximo após a colheita de dez dias, e que só é atingido se forem conservados a temperaturas entre 0 e 5°C, em atmosfera modificada

com 10% de oxigênio e 15-20% de dióxido de carbono. Isto porque os frutos continuam o processo de respiração mesmo depois de serem colhidos (Vieites *et al.*, 2006). Para além disto, também são muito suscetíveis a doenças e pragas. Atualmente os ácaros são considerados os causadores de maiores problemas às culturas produzidas (Ferla, *et al.*, 2007).

Assim, dada a dificuldade e custos associados à manutenção de uma atmosfera correta para a conservação de morangos e também à fragilidade dos mesmos, torna-se bastante óbvio que se trata de um alimento com valores de desperdício muito elevados. São realmente muitos os estudos e trabalhos acerca do reaproveitamento de morangos. Cada vez mais se procuram soluções para diminuir as quebras neste produto, desde a produção de geleias até processos de desidratação (secagem, liofilização) entre outros. As empresas que lidam com este produto têm quebras muito significativas, números realmente alarmantes tanto do ponto de vista económico como ético e que serão alvo de discussão mais adiante neste relatório.

II.4. Desperdício Alimentar vs Poluição Ambiental

Nos últimos 50 anos, o planeta conseguiu multiplicar aproximadamente sete vezes mais as riquezas. Contudo, a sua distribuição nunca foi tão desproporcional como agora, 20% da população detém cerca de 82,7% enquanto a restante tem apenas 17,3% (Oliveira M., 2008).

Produzimos alimentos mais que suficientes para uma alimentação global, contudo os desperdícios alimentares causados nas várias etapas dos processos de produção, processamento, comercialização e consumo continuam a ser um grande problema. Desperdício alimentar, trata-se da consideração de um alimento próprio para consumo como resíduo.

Segundo Alan Bojanic, representante da FAO no Brasil, são desperdiçados anualmente em todo o mundo 1,3 biliões de toneladas de alimentos, onde 54% desse valor é alcançado na fase de produção (manipulação, pós-colheita e armazenagem) e 46% na fase de processamento, distribuição e de consumo. Só os países considerados desenvolvidos desperdiçam valores de 670 milhões de toneladas, o equivalente ao produzido por toda a África a sul do deserto do Saara (Royte, 2014). Alan Bojanic, afirma ainda que os alimentos

O aumento do consumo de laticínios por parte dos países emergentes, como a Índia e a China tem atingido dados históricos (Tetrapak Dairy Index, 2009). São países muito populosos que não tinham por hábito cultural o consumo deste tipo de alimentos mas que têm alterado o seu consumo. Esta crescente procura conduz a um aumento de produção de queijo e por isso de soro. Assim, a poluição das águas está a evoluir exponencialmente, uma vez que não tem havido destino nem solução viável para tal produção (Rosegrant, 2002). O facto do soro apresentar uma carga orgânica muito elevada, não permitindo a sua biodegradação e por isso não poder ser reencaminhado para uma estação de tratamento residual normal, como referido no capítulo I., torna-o num grande problema ambiental.

II.5. Reaproveitamento e valorização de morangos sem características para consumo em fresco e do soro de leite

Com base no enquadramento anterior, o objetivo deste trabalho fica claro: reaproveitar recursos que são considerados resíduos para a indústria agroalimentar mas que tenham todas as condições para produzir um suplemento alimentar com elevada qualidade e segurança.

Em Portugal, só ao nível da produção é desperdiçada 30% da fruta apenas por razões estéticas de calibre, cor e formato. Essa fruta é considerada não conforme apenas pela sua aparência e por isso não é comercializada (FrutaFeia, 2015). Existem já algumas instituições que tentam combater esta situação. O projeto “fruta feia” é o exemplo de uma cooperativa que tem como objetivo principal arranjar destino para esta fruta descredibilizada pela imagem. De realçar que evita um desperdício de 2 toneladas semanais de produtos hortofrutícolas (FrutaFeia, 2015).

A empresa Valmarques, Lda, cedeu gentilmente alguns dados estatísticos acerca das suas perdas anuais de morangos face à sua capacidade de produção (Tabela 5).

Tabela 5 - Quebras diárias de morangos (kg/dia) face à produção na empresa Valmarques, Lda., nas várias épocas do ano.

Época	Quebras (kg/dia)	Produção (ton/dia)
Outubro a Abril	100	1-2
Maio, Agosto e Setembro	500	7
Junho e Julho	600	15-20

Segundo esta empresa a grande maioria das perdas é obtida na fase de produção, justificando-se com problemas de calibre e danos físicos. Outro dos problemas é o armazenamento. Esta fase torna-se sem dúvida mais prejudicial ao tempo de vida útil dos morangos nos meses de maior calor. Estes dados indicam-nos que os subprodutos resultantes das etapas de produção e armazenamento podem 10% do valor total de morangos produzidos diariamente.

Neste trabalho a ideia seria utilizar apenas fruta sem as características exigidas para consumo em fresco (calibre, cor, forma) ou que sofreu pequenos danos físicos numa das etapas do processo de produção.

Quanto ao soro, apenas os imperativos legais limitam, mas não evitam, a sua deposição no meio ambiente e por isso é já parcialmente tratado mas com processos que o valorizam muito pouco. Contudo, a fama referente ao valor nutricional presente nos concentrados de proteínas de soro tem vindo a crescer. Dadas as suas características, torna-se óbvio que o mesmo deve ser aproveitado ao invés de ser considerado como resíduo, diminuindo assim a poluição e criando ainda um produto com bastante qualidade de consumo. A aplicação das tecnologias de valorização do lactossoro passam por se tentar arranjar soluções viáveis de aplicação do mesmo, cujos processos principais passam pela extração dos seus principais constituintes, lactose e proteínas (Costa, 2011).

A concentração das proteínas do soro passa sempre pela extração e diminuição da concentração da água e da lactose. Existem vários métodos para tal; por osmose inversa ou por evaporação sobre vácuo, em que no primeiro caso permite concentração até 20% de matéria seca e no segundo até 55%. Na extração de proteínas existem os métodos de ultrafiltração ou de permuta iónica. No caso do isolamento de lactose, eliminam-se os restantes constituintes aplicando os métodos referidos anteriormente para cada um dos outros constituintes ou concentrando o soro e cristalizando a lactose (Costa, 2011). No caso da não valorização dos subprodutos resta encaminhá-los para um processo de tratamento específico. E para que haja uma descarga para o ambiente existem certos parâmetros que têm de ser respeitados. A tabela 6 indica os valores máximos admissíveis para as águas residuais industriais descarregadas nos coletores públicos pela Câmara Municipal de Celorico da Beira onde estão localizadas várias queijarias.

Tabela 6 - Valores máximos admissíveis para as águas residuais industriais descarregadas nos coletores públicos pela Câmara Municipal de Celorico da Beira (Costa, 2011).

Parâmetros	Valores Máximos Admissíveis	Expressão dos Resultados
CBO ₅ a 20°C	500	mg O ₂ /l
CQO	1000	mg O ₂ /l
SST	1000	mg/l
pH	5<ph<9	-
Temperatura	<45	°C
Óleos e gorduras	250	mg/l
Condutividade	3000	µS/cm
Cloretos totais	150	mg Cl/l
Boro	1	mg B/l
Arsénio total.	0,5	mg As/l
Chumbo total	0,5	mg Pb/l
Cianetos totais	0,5	mg CN/l
Cobre total	1	mg Cu/l
Crómio		
-hexavalente	2	mg Cr (VI)/l
-trivalente	2	mg Cr (III)/l
Ferro total	22,5	mg Fe/l
Níquel total	2	mg Ni/l
Selénio total	0,05	mg Se/l
Zinco total	5	mg Zn/l
Mercurio	0,05	mg Hg/l
Prata	1	mg Ag/l
Cádmio	0,2	mg Cd/l
Metais pesados (total)	10	mg/l
Hidrocarbonetos totais	50	mg/l
Cloro residual disponível total	2	mg Cl ₂ /l
Fenóis	1	mg C ₆ H ₅ OH/l
Sulfuretos	2	mg S/l
Azoto amoniacal	100	mg NH ₄ /l
Detergentes (lauril-sulfato)	50	mg/l

Para que as concentrações das substâncias sejam inferiores ao indicado na tabela anterior, alguns métodos de pré-tratamento seguidos de métodos de tratamento têm de ser aplicados. Geralmente o pré-tratamento consiste na gradagem, equalização de caudal, neutralização e flotação. Sendo o tratamento usualmente biológico. Basicamente os sólidos são retirados na gradagem e o caudal regularizado, seguidamente neutraliza-se o pH para evitar corrosão das tubagens e finaliza-se o pré tratamento com a remoção de óleos e gorduras por flotação (Costa, 2011).

Dos tratamentos biológicos, o mais popular é o das lamas ativadas, que depende do crescimento de microrganismos na água a tratar num tanque de arejamento, para que o ambiente seja rico em oxigénio e que deste modo haja oxidação da carga orgânica em dióxido carbono, água e matéria celular (Costa, 2011).

II.6. O suplemento proteico e antioxidante

O produto a desenvolver seria um suplemento proteico rico em antioxidantes, produzido à base de proteínas de soro de leite e de morangos não comercializáveis no mercado em fresco. A ser comercializado, o produto apresenta um valor ético elevado, não só pelo apoio contra o desperdício alimentar, mas também contra a poluição global do planeta.

Por outro lado, a sustentabilidade económica do projeto também demonstra credibilidade suficiente para que seja lançado. O seu custo de produção ia ser em grande parte devido à tecnologia de produção aplicada uma vez que as matérias-primas utilizadas teriam custo muito reduzido. Desta forma seria possível produzir e desenvolver um produto mais barato que constituísse uma alternativa aos que existem atualmente no mercado.

A tabela 7 indica o preço de dois suplementos à venda no mercado com características de suplementação proteica e antioxidante, individualmente.

Tabela 7 - Preço por quantidade em loja de *whey protein* e suplemento antioxidante.

Suplementos	Quantidade	Preço
“Whey protein” On-gold nutrition Standard	2 kg	61,00 €
Antioxidante Selenium-ACE Extra	30 comprimidos	18,90 €

Sabendo que a dosagem de proteína é de aproximadamente 30 g por toma, um recipiente fornece um total de 66 doses, o que corresponde a um preço de 0,92 €/dose. Um praticante de exercício físico regular serve-se de duas dosagens diárias, o que equivale a aproximadamente um recipiente por mês. Quanto ao suplemento antioxidante, a sua posologia é de um por dia, o que significa que uma caixa tem também uma durabilidade para um mês. O preço por toma será de 0,63 €.

Dados estes valores e admitindo um custo de produção reduzido, pode-se prever uma margem de lucro bastante agradável. Para além disso, se o produto conseguisse ser competitivo a nível nutricional, isto é colmatar simultaneamente as necessidades em antioxidantes e ainda proteica, a possibilidade de ser bem aceite pela população seria com certeza elevada.

Capítulo III

Materiais e Métodos

Neste capítulo relata-se o trabalho prático desenvolvido no âmbito do contributo para a formulação do suplemento nutricional, nomeadamente a preparação e processamento das amostras e os métodos para a sua caracterização. As amostras em estudo foram os morangos e soro de leite. No primeiro caso foram produzidos e analisados três tipos de amostras: “Morango *in natura*”, “Morango desidratado” e “Morango liofilizado”. No caso do soro, este foi usado para a produção de concentrados líquidos de proteínas de soro. Ao longo do processo de concentração foram recolhidas e caracterizadas amostras para verificar a eficiência do processo.

Será também descrito o estudo realizado na forma de um inquérito, e que foi elaborado a uma população de noventa indivíduos (com identidade completamente anónima) que aceitaram dar a sua opinião sobre a utilização de suplementos nutricionais.

III.1. Preparação das amostras de morangos

O morango utilizado neste estudo foi gentilmente cedido pela empresa Valmarques, Lda. A variedade do morango foi “San Andre” e a sua colheita foi feita no dia 2 de Dezembro de 2014.

A amostra de morangos foi inicialmente dividida em três porções com quantidades aproximadamente idênticas. Cada lote foi identificado de acordo com o tratamento a que foi sujeito: “Morango *in natura*” sem tratamento, “Morango desidratado” e por último “Morango liofilizado” (Figura 7). Após a divisão dos morangos pelos respetivos lotes foram-lhes retiradas as sépalas e as partes superiores imaturas. Foram posteriormente cortados em quartos com o objetivo de reduzir as suas dimensões e de homogeneizar o tamanho dos morangos. Após esta operação, as amostras sofreram tratamentos diferentes de acordo com o tipo de produto a obter.

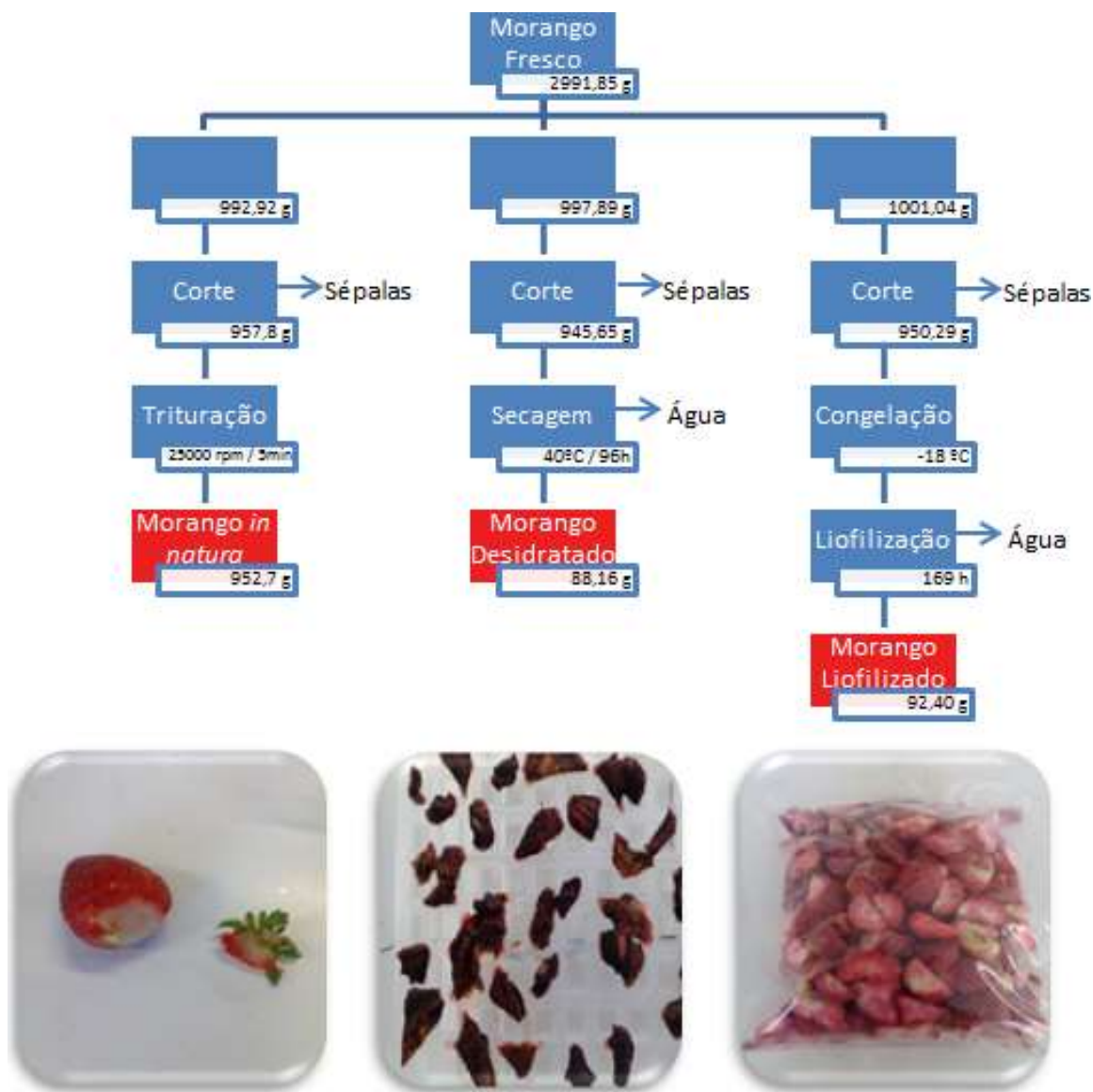


Figura 7 - Esquema do processo de preparação das amostras de morango *in natura*, desidratado e liofilizado e respectivas quantidades (g) processadas e obtidas.

III.1.1. Morango *in natura*

Os Morangos *in natura* trituraram-se no UltraTurrax (Ika, T25 Digital) a 25000 rpm durante 5 minutos depois de partidos em quartos. O objetivo foi reduzir as dimensões das grainhas dos morangos e homogeneizar a amostra. Após esta operação a amostra foi avaliada relativamente ao °Brix, humidade, pH, acidez titulável, atividade da água (a_w), cor e capacidade antioxidante (teor em compostos fenólicos e atividade antioxidante). Todas as análises foram realizadas em triplicado.

III.1.2. Morango desidratado

Esta amostra de morangos começou por ser desidratada em estufa a 40°C durante 96 horas. Uma parte foi triturada nas mesmas condições descritas para o caso dos morangos in natura com o UltraTurrax (Ika, T25 digital) a 25000 rpm durante 5 min. Após esta operação a amostra foi avaliada relativamente ao pH, acidez titulável, atividade da água (a_w) e capacidade antioxidante. A outra parte, morango desidratado partido (não triturado), foi utilizada para a determinação da humidade. A cor foi avaliada no morango desidratado em pó, uma vez que o objetivo de apresentação final do produto será nessa forma. A avaliação do °Brix para este caso foi feita através de balanço mássico. Todas as análises foram realizadas em triplicado.

III.1.3. Morango liofilizado

Os morangos partidos em quartos foram congelados dentro de um saco esterilizado. Foram depois colocados no liofilizador (Labconco, Lyph-Lock Stoppering Tray Dryer Freeze Dry System, USA 1992) e liofilizados durante 7 dias. Uma vez liofilizados, parte desses morangos

foram diluídos com água e triturados no UltraTurrax (Ika, T25 Digital) a 25000 rpm durante 5 min. A outra parte foi colocada noutro saco e congelada novamente. À solução obtida, avaliou-se o pH, acidez titulável e a_w . A capacidade antioxidante (teor de fenólicos e atividade antioxidante) foi avaliada posteriormente. A avaliação da cor, foi realizada na amostra em pó, triturada a seco, nas condições descritas anteriormente para o morango desidratado, assim como a avaliação do °Brix foi estimada através de balanço mássico. Todas as análises foram realizadas em triplicado.

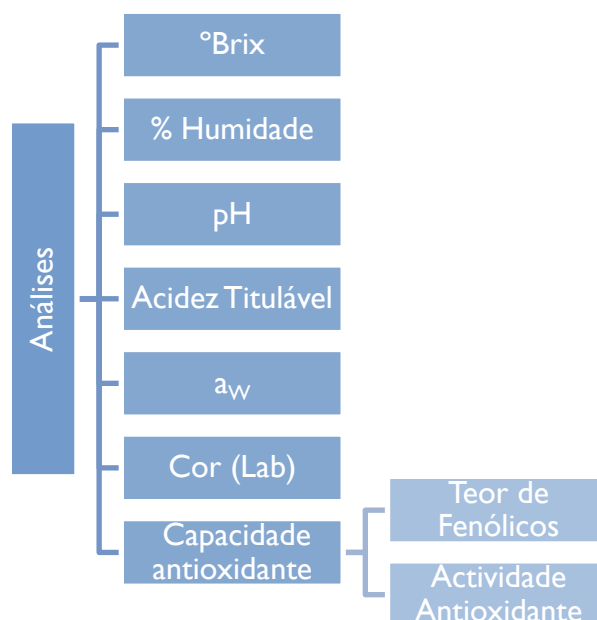


Figura 8 - Análises laboratoriais efetuadas.

III.2. Métodos de caracterização das amostras de morangos

III.2.1. °Brix

Para a análise do °Brix (% sólidos solúveis totais) no morango *in natura* foi necessário efetuar uma filtração da polpa com filtro de papel. O sumo obtido foi analisado diretamente num refratómetro (ABBE, PZO – Warszawa, modelo RL3, Polónia). Nos casos do morango desidratado e liofilizado, o valor do °Brix foi estimado através de balanço mássico.

III.2.2. pH e acidez titulável

O pH das amostras foi medido diretamente com o potenciómetro (Hanna, HI 9025C, fabricado em Portugal com elétrodo Hanna HI FC2031).

Para a análise da acidez titulável, a metodologia utilizada foi adaptada da NP 1421, 1977 1ª edição.

No caso do morango *in natura* foi feita uma diluição da amostra (10:100 sumo:água) adicionando 100 mL de água destilada a 10 mL do sumo obtido na filtração da polpa do morango triturado. Seguidamente titulou-se a mistura com hidróxido de sódio (0,1 N) ao mesmo tempo que se acompanhava a variação do pH. Foi registado o volume gasto de solução de NaOH consumido até a solução atingir o ponto de viragem (pH = 8,3). Para os morangos desidratados e liofilizados, o método foi idêntico com exceção da diluição utilizada, nestes casos foi de (1:100 sumo:água). Os valores foram apresentados em percentagem de ácido cítrico aplicando a equação 1, em que a constante 64,04 representa a equivalência em g/mL de ácido cítrico.

$$\text{Acidez (\%)} = \frac{V_{\text{NaOH}} \text{ gasto} \cdot [\text{NaOH}] \cdot 64,04}{V_{\text{amostra}}} \times 100 \quad (1)$$

III.2.3. Humidade

As amostras começaram por ser desidratadas a 40°C durante 96 horas. Seguidamente foram colocadas a secar a 100°C durante 24 h, processo adaptado da NP 785, 1985 2ª edição. O cálculo da humidade foi feito a partir da equação 2.

$$\text{Humidade (\%)} = \frac{\text{Massa amostra húmida (g)} - \text{Massa amostra seca (g)}}{\text{Massa amostra húmida (g)}} \times 100 \quad (2)$$

Esta equação foi utilizada para as amostras de morango *in natura* e desidratado, sendo que no segundo caso, a massa de amostra húmida utilizada foi a do morango desidratado em estufa (a 40°C) e a massa de amostra seca foi a mesma mas exposta posteriormente a uma temperatura de 100°C durante 24 h. Os resultados foram considerados satisfatórios quando o coeficiente de variação foi menor que 10% (equação 3).

$$\text{Coeficiente de variação, CV (\%)} = \frac{\text{Desvio Padrão}}{\text{Média}} \times 100 \quad (3)$$

A humidade no morango liofilizado foi assumida como nula, pois a quantidade de água após o processo de liofilização é inexistente ou vestigial.

III.2.4. Atividade da água (a_w)

O valor de a_w para todas as amostras foi obtido através da análise direta de cada amostra no equipamento HydroscoP BT, a uma temperatura média de 18°C até atingir o equilíbrio (cerca de 1,5 h). Foram efetuadas três leituras para cada amostra.

III.2.5. Análise da cor

A análise da cor das amostras foi avaliada com base no sistema de Hunt $L^*a^*b^*$ e foi efetuada através de medição direta, utilizando o colorímetro-Minolta CR-200. A placa padrão utilizada foi a vermelha com a referência CR-A47R(1840-711) cujos valores de L^* , a^* e b^* são 49,6; 46,6 e 22,3, respetivamente.

III.2.6. Capacidade antioxidante

A capacidade antioxidante foi avaliada por dois métodos: determinação do teor de compostos fenólicos e a determinação da atividade antioxidante. A realização dos ensaios foi feita de forma bastante cuidadosa uma vez que se verificou grande dificuldade em pipetar as amostras de morango, porque apesar de trituradas, continham ainda resíduos sólidos

(grainhas) que afetavam a medição dos volumes corretos pela pipeta automática. Para ambos os métodos as amostras foram analisadas em triplicado.

Decidiu-se também analisar, pelo mesmo método, a atividade antioxidante de um suplemento, o “Selenium ACE extra”, que é considerado pelos desportistas como um dos melhores antioxidantes do mercado, de forma a poder estabelecer uma comparação entre as amostras produzidas e os produtos comerciais disponíveis.

III.2.6.1. Determinação do teor de compostos fenólicos

Para a determinação do teor de compostos fenólicos utilizou-se o método de Folin-Ciocalteu.

Começou-se pela preparação dos reagentes e das amostras para análise. Preparou-se uma solução de carbonato de sódio a 17% (m/v) e uma solução de ácido gálico (1,6 mg/mL). As três amostras de morango (*in natura*, desidratado e liofilizado) foram trituradas no UltraTurrax (Ika, T25 digital) de modo a reduzir ao máximo os resíduos sólidos e tornar a amostra o mais homogênea possível. As amostras foram também diluídas com água de forma a que a absorvância do ensaio se situasse entre 0,2 e 1,0, processo que tornou a amostra mais fluida e conseqüentemente mais fácil de pipetar.

Previamente à análise das amostras, elaborou-se a curva de calibração para o método. Colocaram-se tubos de ensaio com 0, 4, 8, 12, 16 e 20 μ L da solução mãe de ácido gálico e adicionou-se etanol até perfazer 20 μ L em cada tubo. Sendo o primeiro tubo o “branco” utilizado para a calibração das leituras de absorvância no espectrofotómetro. Seguidamente adicionou-se 1580 μ L de água destilada a todos os tubos de ensaio. Ao adicionar 100 μ L de reagente de Folin ao primeiro tubo deu-se início à contagem do tempo e em cada 30 segundos adicionou-se o reagente por ordem nos restantes tubos. Quando se adiciona o reagente de Folin no 2º tubo deve-se adicionar 300 μ L da solução de carbonato de sódio ao tubo anterior (também de 30 em 30 segundos). Todos os tubos foram agitados no vortex para garantir total solubilização e ficaram em banho-maria a 40°C durante 30 minutos. De seguida, mediu-se a absorvância de cada tubo por ordem e de 30 em 30 segundos, no espectrofotómetro a 765 nm, em cuvetes de plástico. Feita a curva de calibração (Figura 9) passou-se para a análise das amostras com um processo é idêntico ao da curva de calibração e cada amostra foi tratada em triplicado.

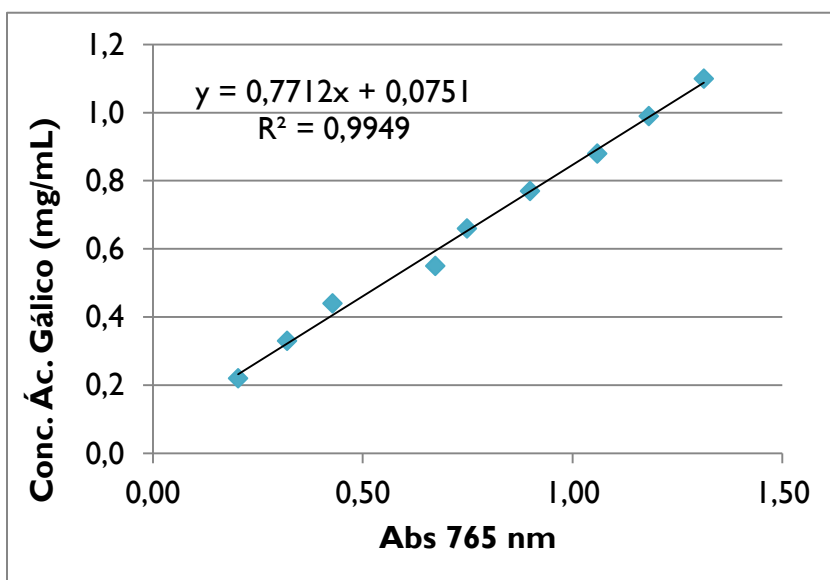


Figura 9 - Curva de calibração para a análise do teor de compostos fenólicos.

Por fim, determinou-se o teor de compostos fenólicos totais nas amostras através da equação obtida a partir da reta de calibração. O teor é expresso em equivalentes de ácido gálico (g ácido gálico/g amostra).

III.2.6.2. Determinação da atividade antioxidante

Para a determinação da atividade antioxidante foi utilizado o método de DPPH. Começou-se por preparar os reagentes e as amostras para análise. Dissolveram-se 4 mg do reagente DPPH em 100 mL de metanol e usou-se ácido ascórbico com concentração 0,5 mg/mL. As amostras foram mais uma vez tratadas como referido no método anterior, tendo especial atenção às concentrações, que para o morango in natura foi 0,05604 g (peso seco)/mL, para o morango desidratado 0,0172 g/mL, para o liofilizado 0,0148 g/mL e para o comprimido de selênio 0,5040 g/mL.

Procedeu-se à elaboração da reta de calibração. Para tal colocou-se 0, 2, 4, 8, 12, 16 e 20 µL de ácido ascórbico em cada tubo de ensaio respetivamente, e preencheu-se com água destilada cada um dos tubos até perfazer um volume total de 100 µL. O tubo com 100 µL de água é o “branco”. Para garantir total solubilização utilizou-se o vortex. Cada concentração foi feita em duplicado e deixada num local escuro por trinta minutos. Seguidamente registou-se a absorvância das amostras no espectrofotómetro a um

comprimento de onda de 517 nm. Calculou-se a percentagem de inibição que é obtida pela equação:

$$\% \text{ de inibição} = \frac{\text{Média de controlo} - \text{absorvância da amostra}}{\text{Média de controlo}} \times 100 \quad (4)$$

Onde: “média de controlo” - valor médio obtido das absorvâncias do tubo “branco” da reta de calibração; absorvância da amostra - valor médio das absorvâncias em cada tubo para cada concentração (desde os 2 μL até aos 20 μL). A representação gráfica da % de inibição em função da concentração de ácido ascórbico traduz a equação da reta de calibração (Figura 10).

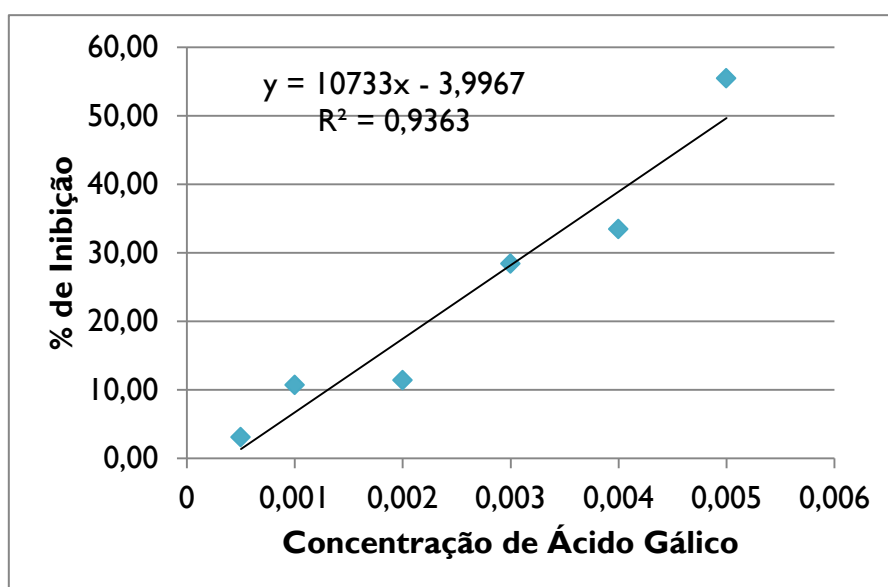


Figura 10 - Curva de calibração para a análise da atividade antioxidante.

Para a análise das amostras o processo foi idêntico ao da curva de calibração, substituindo a solução de ácido ascórbico pela amostra correspondente. O resultado da análise é o cálculo do ic50 que representa metade da concentração máxima inibitória.

III.3. Preparação das amostras de soro de leite

O soro de leite utilizado foi recebido a 22 de junho de 2015 e tratado no Oficina tecnológica de laticínios da Escola Superior Agrária de Coimbra nos dois dias seguintes.

O soro foi desnatado e concentrado por ultrafiltração (Figura 11). Foram retiradas amostras de cada produto e identificadas de acordo com o tratamento a que foram sujeitas: “Soro inteiro” sem tratamento, “Soro desnatado” e por último “Concentrado líquido de proteínas de soro” (CLPS).



Figura 11 - Esquema da produção dos concentrados de proteína de soro (CLPS).

Aquando da receção do soro, foi retirada uma amostra que foi prontamente congelada. Seguidamente, o soro foi desnatado para remover a gordura presente. Para tal, o soro passou por uma centrífuga industrial (Westfalia Separator, MTA9.00.104), que a separou do soro por diferença de densidades. Foram recolhidos aproximadamente 230 L de Soro desnatado.

Após a desnatação passou-se ao processo de concentração por ultrafiltração (UF) do restante soro, processo este feito por um aparelho de ultrafiltração equipado com membranas orgânicas DSS, modelo 20K3838-30, com 5,5 m² de área filtrante e 10 kDa de limiar de corte. A pressão média foi de 4 bar. Neste processo foi removida água, lactose e sais, retendo apenas as proteínas e alguma gordura residual do soro desnatado (Figura 12). O fluxo de filtração foi diminuindo ao longo do tempo, uma vez que se verificou alguma colmatação da membrana de UF, começando a 200 L/h e passando a 140 L/h.

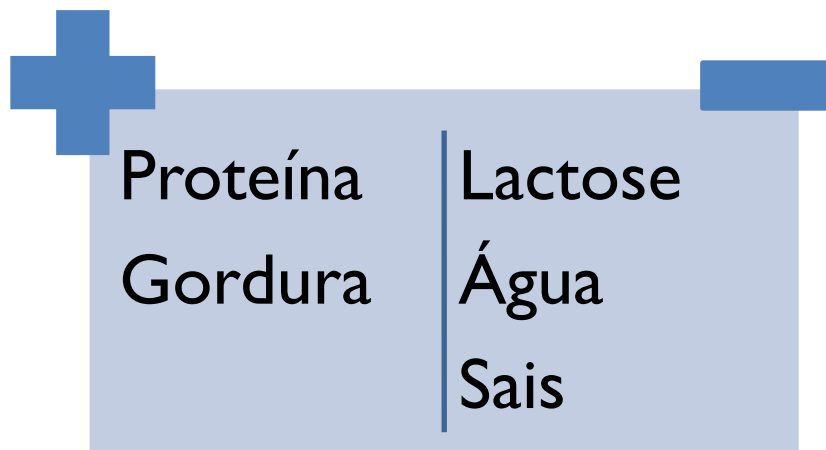


Figura 12 - Processo de ultrafiltração esquematizado.

Depois do processo de concentração dos 230 L de soro desnatado obtiveram-se duas correntes: um total de 12 litros de CLPS (retido) e os restantes 218 L foram descartados (filtrado). O processo terminou com um tratamento térmico do CLPS a 85°C e homogeneização a 80 bar. No final o CLPS foi dividido em várias garrafas e congelado.

III.3.1. Métodos de caracterização dos produtos à base de soro

As três amostras recolhidas ao longo do processo de concentração das proteínas de soro: “Soro inteiro”, “Soro Desnatado” e “CLPS” foram caracterizadas em termos de pH, acidez titulável, humidade, cinzas, proteínas, gordura e hidratos de carbono (Figura 13). Todas as análises foram realizadas em triplicado.

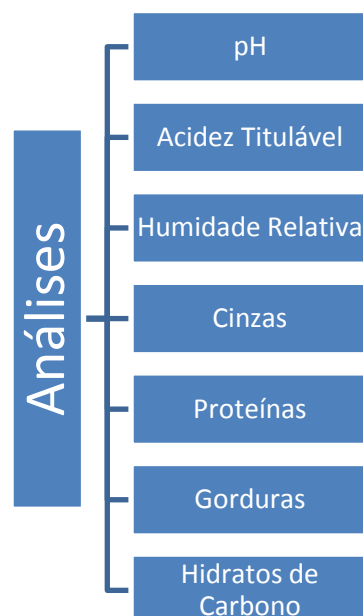


Figura 13 - Análises feitas às amostras de soro.

III.3.1.1. pH

O pH de cada amostra foi medido diretamente com o potenciómetro (Hanna, HI 9025C, fabricado em Portugal com elétrodo Hanna HI FC2031).

III.3.1.2. Acidez titulável

Para a determinação da acidez titulável foram utilizadas e adaptadas as técnicas e metodologias descritas na NP 470:1983 utilizada para leite.

Adicionaram-se 4 gotas de fenolftaleína a 10 mL de cada uma das amostras. Estas foram tituladas com hidróxido de sódio (0,1 N) até haver uma alteração de cor. Foi registado o volume gasto de solução de NaOH consumido até a solução atingir o ponto de viragem. Os valores foram apresentados em percentagem de ácido láctico aplicando a equação 5, em que a constante 90,00 representa a equivalência em g/mililitro de ácido láctico.

$$\text{Acidez (\%)} = \frac{V_{\text{NaOH}} \text{ gasto} \cdot [\text{NaOH}] \cdot 90,00}{10 \times V_{\text{amostra}}} \quad (5)$$

III.3.1.3. Humidade relativa, sólidos totais e cinzas

As amostras foram desidratadas a 105°C durante 4 horas em estufa (Memmert, Schwabach), tal como descrito na NP 475, 1983 1ª edição, para resíduos com valores de gordura inferiores a 0,1%. O cálculo da humidade foi feito a partir da equação 6.

$$\text{Humidade (\%)} = \frac{\text{Massa amostra húmida (g)} - \text{Massa amostra seca (g)}}{\text{Massa amostra húmida (g)}} \times 100 \quad (6)$$

Para saber o extrato seco da amostra (sólidos totais), foi feita uma relação mássica direta entre o peso total das amostras antes de serem desidratadas e o peso final das mesmas após a desidratação (equação 7).

$$\text{EST (\%)} = \frac{\text{Massa extrato seco (g)}}{\text{Massa amostra inicial (g)}} \times 100 \quad (7)$$

Depois de desidratadas, as mesmas amostras foram colocadas durante 4,5 h numa mufla Naber, Industri eofenbar. Na primeira meia hora foram expostas a temperaturas de 200°C e nas quatro horas seguintes a 550°C. Por fim, as amostras retiraram-se da mufla, deixaram-se arrefecer e pesaram-se. O processo foi adaptado da NP 477, 1983 2ª edição, que é relativa ao teor de cinzas totais de leite. O cálculo da percentagem de cinzas foi dado pela seguinte equação:

$$\text{Cinzas (\%)} = \frac{\text{Massa amostra em cinza (g)}}{\text{Massa amostra inicial (g)}} \times 100 \quad (8)$$

III.3.1.4. Proteínas

Para determinar a quantidade de proteínas existentes nas amostras utilizou-se o método de titulação de formol descrito em *Pearson's Chemical Analysis of Food* (Egan, et al., 1981). Quando se adiciona o formol a uma solução neutralizada que contenha proteínas, vai haver uma reação entre o formaldeído e os grupos amins das proteínas.

Neste caso adicionaram-se 2 mL de formol às amostras previamente neutralizadas na análise da acidez titulável e titulou-se novamente com hidróxido de sódio 0,1 N até atingir a cor rosa novamente. O Zero do formol foi calculado a partir da titulação com o Hidróxido de Sódio 0,1 N, da solução de 2 mL de formol com água. Posteriormente calculou-se a percentagem de proteína a partir da seguinte equação:

$$\text{Proteínas (\%)} = 1,95 \times (a - b) \times 100 \quad (9)$$

Onde: "a" é o volume do titulante NaOH usado na amostra; e "b" o volume do titulante NaOH usado para a titulação da solução de formol.

III.3.1.5. Gordura

Para a determinação de matéria gorda foi utilizada a técnica de Gerber, descrita na NP 469:1983.

Começou-se por medir 10 mL de ácido sulfúrico para um butirómetro de Gerber e 11 mL da amostra. Depois adicionou-se 1 mL da mistura (do butirómetro) a 1,1 mL de álcool isoamílico sem misturar os líquidos. Agitou-se até que a caseína coagulada pelo ácido fosse totalmente solubilizada. Procedeu-se à centrifugação durante 5 minutos, numa centrífuga K. Schneider & CoAG, sem que o butirómetro arrefecesse. Por fim retiraram-se as amostras e leram-se os resultados diretamente na escala do butirómetro colocando o menisco entre a fase orgânica (gordura) e aquosa no início da escala do butirómetro e colocando-o numa posição vertical.

III.3.1.6. Hidratos de carbono

A análise do conteúdo em hidratos de carbono, isto é, maioritariamente a lactose presente nas amostras, foi feita a partir de balanço percentual (equação 10). Depois de determinado o extrato seco e sabendo as percentagens dos restantes constituintes desse extrato (cinzas, gordura e proteína) pode-se calcular o valor dos hidratos de carbono nas amostras.

$$\text{Lactose(\%)} = \text{Extracto seco (\%)} - ((\%)\text{cinzas} + (\%)\text{gordura} + (\%)\text{proteína}) \quad (10)$$

III.4. Estudo de mercado para avaliar a aceitação do produto

Para avaliar a aceitação do produto a desenvolver, foi realizado um pequeno inquérito com cinco questões com três hipóteses de resposta na primeira questão (“regularmente”, “pontualmente” e “raramente”), duas hipóteses de resposta nas três questões seguintes (“sim” e “não”) acrescentando a opção “talvez” na última questão (Tabela 8). O inquérito foi realizado em três locais distintos: num ginásio, num jardim/parque e num estabelecimento comercial, a um total de noventa pessoas (trinta em cada local). A escolha dos diferentes locais pretendeu que o universo de inquiridos incluísse: pessoas que praticam exercício físico regularmente e cuja possibilidade de conhecerem suplementos alimentares é mais elevada (local: ginásio); pessoas que apenas praticam atividade física leve, como “jogging” (local: jardim/parque); e as que possam não praticar qualquer tipo de desporto (local: estabelecimento comercial).

Tabela 8 - Inquérito realizado.

Questões
1. Pratica exercício físico?
2. Toma suplementos?
3. Toma proteína “Whey”?
4. Toma Antioxidantes?
5. Aceitaria tomar suplemento misto?

A figura 14 apresenta a distribuição do universo de inquiridos por género. Na totalidade foram questionados 48 indivíduos do sexo masculino e 42 do sexo feminino o que indica uma amostragem muito homogénea, quer em termos globais quer em termos dos locais selecionados.

As amostras “Ginásio” e “Centro comercial” apresentam-se idênticas com 17 inquiridos do sexo masculino e 13 do sexo feminino. Só a amostra “Rua” é que variou, ficando com 16 inquiridos do sexo feminino e 14 de masculino.

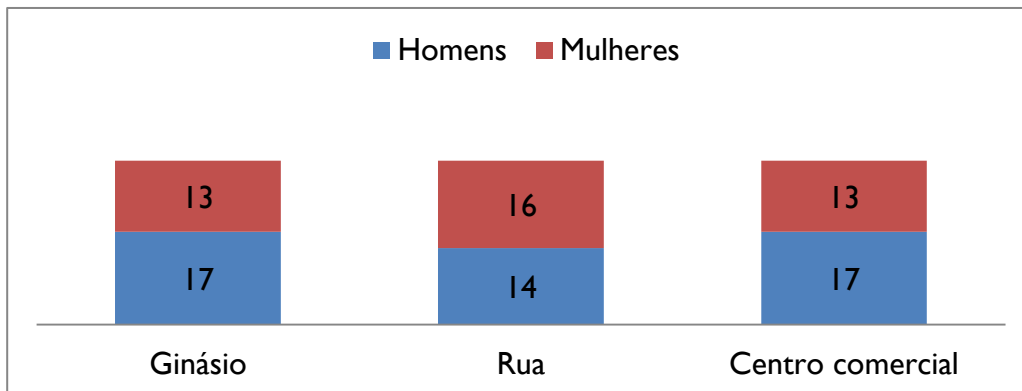


Figura 14 - Caracterização dos inquiridos por género de acordo com os locais selecionados.

A média de idades dos inquiridos por local, e por género é apresentada na figura 15. A média de idades situa-se por volta dos 25 anos para homens e 23 para mulheres no caso do “ginásio”. Já os homens e mulheres questionados na rua apresentam uma média arredondada às unidades de 25 e 27 anos respetivamente. Por fim, no caso dos inquiridos no centro comercial os homens apresentam valores aproximados de 27 anos e as mulheres 29.

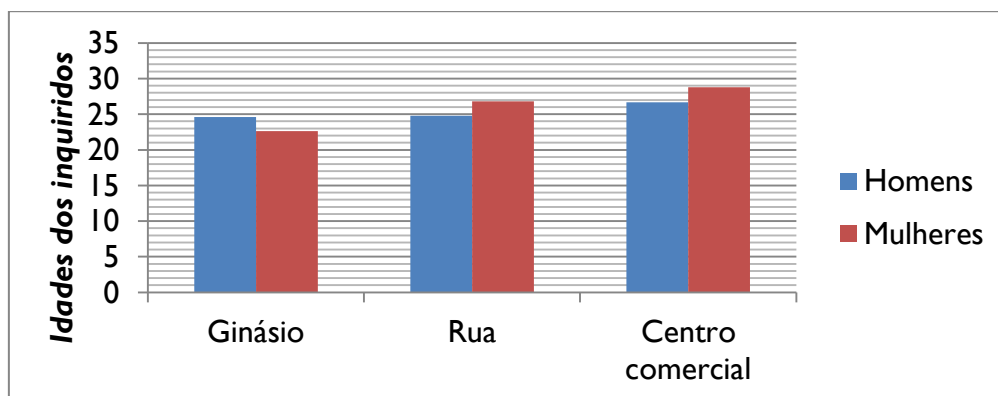


Figura 15 - Média de idade dos inquiridos em função do género e local do questionário.

A população representativa do ginásio é a que tem a média mais reduzida, enquanto que a mais elevada pertence aos inquiridos que se encontravam no centro comercial, superior a 25 anos nos dois casos, ficando a amostra populacional da “rua” como intermédia.

A primeira pergunta teve como objetivo qualificar a carga de exercício físico praticado pelos inquiridos em três categorias, regularmente (>4 dias/semana), pontualmente (<3 dias/semana) e raramente (≤ 1 dia/2semanas). Já a segunda pretendeu verificar o estado atual do mercado de suplementos em geral, isto é, avaliar se os suplementos já são um tipo de produto aceite pelo consumidor como um complemento alimentar ou não. A terceira questão teve como objetivo quantificar os consumidores de proteína de soro (*whey*) e analisar mais uma vez o mercado atual, mas neste caso de um tipo de suplemento em específico. A mesma intensão esteve a na origem da quarta questão, mas direcionada para os suplementos antioxidantes. Por fim, a última questão visou estudar a aceitabilidade da população em geral, quer fossem praticantes de exercício físico ou não, do suplemento proteico com antioxidantes a desenvolver. As respostas a esta questão permitirão extrapolar a reação da população no caso de surgir no mercado um suplemento desta natureza.

Capítulo IV

Apresentação e Discussão de Resultados

IV.1. Caracterização físico-química das amostras de morango

Os resultados das análises físico-químicas das amostras em estudo (morango *in natura*, desidratado, liofilizado e do comprimido “Selenium Ace extra”) estão apresentados nas tabelas 9, 10 e 11. A tabela 9 apresenta o °Brix, pH, acidez titulável (% de ácido cítrico), humidade e atividade da água (a_w).

Tabela 9 - Parâmetros físico-químicos do morango *in natura*, desidratado e liofilizado (Média \pm desvio padrão).

Parâmetros	Amostras		
	Morango <i>in natura</i>	Morango desidratado	Morango liofilizado
°Brix	9,7 \pm 0,144	96,04	\approx 99,9
pH	3,4 \pm 0,122	3,7 \pm 0,141	3,3 \pm 0,118
Acidez titulável (% ácido cítrico)	1,019 \pm 0,034	1,227 \pm 0,026	1,149 \pm 0,017
Humidade (%)	90,65 \pm 0,06	7,43 \pm 0,49	\approx 0,0
a_w	0,929 \pm 0,002	0,262 \pm 0,004	0,037 \pm 0,001

Os resultados do °Brix nas amostras analisadas indicam que os sólidos solúveis (açúcares, ácidos, vitaminas, aminoácidos e pectinas) do morango desidratado e liofilizado são significativamente superiores às do morango *in natura*. Verifica-se um aumento de aproximadamente 10 vezes passando de 9,7°Brix para 96,04°Brix e \approx 99,9°Brix, no morango desidratado e liofilizado respetivamente. Este acréscimo deve-se ao aumento da concentração de sólidos solúveis resultantes da perda de água nos dois processos de desidratação (Guimarães *et al.*, 2008).

Quanto ao pH para o morango *in natura* está de acordo com os valores já publicados em outros estudos (Françoso *et al.*, 2008) e que é da mesma ordem de grandeza para o morango liofilizado. Para os morangos desidratados verificou-se um ligeiro aumento no pH, este pode ser justificado pelo tempo de armazenamento que os morangos tiveram após desidratação. Estudos anteriores (Françoso *et al.*, 2008) demonstram uma alteração do pH similar ao longo do tempo. Este facto pode dever-se ao armazenamento não ter sido feito em vácuo total, fazendo com que a amostra absorvesse alguma humidade ao longo do tempo no saco estéril e conseqüentemente aumentasse o valor de pH. Já os morangos liofilizados

mantiveram o valor de pH pois a amostra foi conservada a vácuo total até ao momento da análise.

A acidez titulável do morango *in natura* está dentro dos parâmetros esperados ($\leq 1,1$ % ácido cítrico) (Hannah, (s.d.)). Os valores para os morangos desidratados e liofilizados são significativamente superiores (1,227% e 1,149% ácido cítrico, respetivamente), facto que pode ser justificado pelos processos de desidratação do fruto. De acordo com Guimarães *et al.* (2008) a diferença da acidez entre os morangos desidratados e liofilizados e os morangos *in natura* reside no facto de ter havido uma redução de água nos processos de desidratação, que resulta num conseqüente aumento da concentração dos sólidos presentes (açúcares e sais, por exemplo) e que por sua vez vai impossibilitar o desenvolvimento microbiano.

A humidade das amostras apresenta-se da mesma ordem de grandeza dos valores já determinados em estudos anteriores (Guimarães *et al.*, 2008). O morango é um fruto com grande percentagem de humidade (90,65%) e bastante sensível. Por isso o seu processo de desidratação exige que as condições sejam bem selecionadas (tempo e temperatura). Quando sujeito a uma temperatura de 40°C durante 96 h, não se verificou uma desidratação total do fruto, permanecendo com 7,43% de água. A aplicação de uma temperatura de 100°C durante 24 horas permitiu que o fruto desidratasse completamente. Quanto ao morango liofilizado, a percentagem de água foi considerada aproximadamente zero, uma vez que baseado em estudos anteriores (Marques, 2008) é considerada vestigial. Como para a percentagem de humidade do produto liofilizado, este se apresenta estável e como o seu armazenamento foi efetuado em vácuo esta consideração é perfeitamente razoável.

Tendo em conta a humidade de cada amostra, os resultados obtidos para a atividade da água já eram de esperar. Sabe-se que o processo de liofilização seria mais eficaz que o de desidratação (Macan, 2013). O morango *in natura* apresentou valores de a_w de 0,929, o desidratado 0,262 e o liofilizado 0,037. Consegue-se perceber que o processo de desidratação (40°C/ 96h) foi suficiente para reduzir a atividade da água para valores que evitam a alteração microbiológica da amostra. Já a liofilização mostrou ser muito mais eficiente, onde se obtiveram resultados muito próximos de zero corroborando que a % de água nesta amostra é vestigial.

Para a análise da cor (Tabela 10) os resultados têm de ser comparados com a placa vermelho padrão.

Tabela 10 - Análise da cor, L*a*b* (Média±DP).

Coordenadas	Morango <i>in natura</i>	Morango desidratado	Morango liofilizado	Padrão vermelho
L*	30,3 ± 1,0	37,6 ± 0,1	64,1 ± 0,3	49,6
a*	20,9 ± 0,9	17,0 ± 0,1	28,7 ± 0,1	46,6
b*	14,2 ± 1,3	18,6 ± 0,2	20,8 ± 0,2	22,3

No sistema de cor utilizado a coordenada a* é que traduz as diferenças de cor entre o verde (a* com valores negativos) e o vermelho (a* com valores positivos). Como podemos verificar todos os valores referentes a esta coordenada face ao valor a* do padrão vermelho são mais reduzidos, sendo que para a amostra de morango *in natura* a diferença é de $\Delta a^* = -29,6$, para a de morango desidratado $\Delta a^* = -25,7$ e para a de morango liofilizado $\Delta a^* = -17,9$. Constata-se que o morango desidratado é o que perde mais a sua tonalidade vermelha face ao morango *in natura* e por isso mais afastado do padrão vermelho. Por sua vez o liofilizado fica mais próximo do padrão que o próprio morango *in natura*, indicando que este processo de secagem pode intensificar a cor dos morangos e torna-los mais atrativos visualmente. Ao comparar o valor da coordenada b* (referente à cor amarela quando positivo) com o valor da placa padrão temos: $\Delta b^*(in\ natura) = -8,067$; $\Delta b^*(desidratado) = -3,7$ e $\Delta b^*(liofilizado) = -1,5$. Mais uma vez as amostras dos dois processos de desidratação apresentam valores abaixo do valor padrão, contudo ambos se aproximam mais do que o morango *in natura*. Por fim, analisando a variação da luminosidade (ΔL^*) temos os seguintes valores $\Delta L^*(in\ natura) = -19,233$; $\Delta L^*(desidratado) = -12$ e $\Delta L^*(liofilizado) = +14,5$. Neste parâmetro, os dois processos de desidratação permitem a obtenção de morangos com uma luminosidade mais próxima do valor do padrão, sendo que a amostra de morango liofilizado até ultrapassa esse valor, o que define uma cor mais clara. Deste facto advém a cor rosada que o morango liofilizado assume após trituração.

Comparando a cor das amostras de morango desidratado e liofilizado (Figura 16), observa-se que o processo de liofilização é o que mais se aproxima sem dúvida da cor padronizada, tendo mais luminosidade e uma cor mais próxima de vermelho. A amostra de morango desidratado acaba por se afastar bastante da cor original, assumindo um tom mais castanho e menos luminoso.



Figura 16 - Amostras de morango liofilizado e desidratado.

Em termos da capacidade antioxidante (Tabela II) e analisando o teor de compostos fenólicos nas diferentes amostras podemos concluir que o morango *in natura* e liofilizado apresentam aproximadamente o mesmo valor. Já a amostra de morango desidratado apresenta um valor um pouco mais baixo. Apesar desta diferença não ser muito elevada este resultado pode-se dever à dificuldade da realização dos ensaios provocada pela heterogeneidade das amostras. Verifica-se também que o processo de desidratação penaliza a composição em compostos fenólicos enquanto que a liofilização permite manter a mesma concentração do que as amostras do morango *in natura*, facto que se pode dever às temperaturas mais elevadas praticadas durante o processo de secagem por desidratação em estufa.

Quanto à atividade antioxidante, o valor mais baixo do ic_{50} relativamente à base seca para as amostras dos morangos desidratados e liofilizados indica que estas possuam uma maior atividade antioxidante que o morango *in natura*. Comparando os dois processos de desidratação, o morango liofilizado tem uma atividade antioxidante superior à do desidratado. Contudo esta diferença talvez não justifique a utilização de um processo extremamente mais caro e moroso como é o caso da liofilização.

Tabela II - Capacidade e atividade antioxidante (teor de compostos fenólicos (TF) e ic50). Média \pm Desvio Padrão e CV- coeficiente de variação.

Amostras	TF (% g EAG/g am.seca*100)			ic50 (mg am./mL solução)	ic50 (mg am.seca/mL solução)
	média	\pm (DP)	CV		
Morango <i>in natura</i>	2,32	0,36	15,58	14,1880	1,3250
Morango Desidratado	1,87	0,18	9,67	0,6080	0,5630
Morango Liofilizado	2,38	0,14	5,86	0,3200	0,3200
Selenium Ace extra	3,49	0,40	11,5	0,0008	0,0008

Comparando os valores da capacidade antioxidante obtidos para as várias amostras de morangos e os do comprimido *Selenium Ace extra* verificamos que todas elas têm capacidade antioxidante inferior mas o morango liofilizado é aquele que apresenta os valores mais próximos.

IV.2. Caracterização físico-química das amostras recolhidas durante a produção do CLPS

Os resultados das análises físico-químicas das amostras recolhidas: soro inteiro, soro desnatado e CLPS são apresentados na Tabela 12, cujos resultados dizem respeito aos valores do pH, acidez titulável (% de ácido láctico), sólidos totais, humidade, cinzas, proteínas, gorduras e hidratos de carbono (maioritariamente lactose).

Tabela 12 - Caracterização físico-química do soro inteiro, desnatado e dos CLPS (Média ± desvio padrão).

Parâmetros	Amostras		
	Soro Inteiro (matéria-prima)	Soro Desnatado	CLPS (produto final)
pH	6,55 ± 0,01	6,68 ± 0,01	6,01 ± 0,01
Acidez titulável (% ácido láctico)	0,102 ± 0,021	0,079 ± 0,042	0,421 ± 0,015
Sólidos totais (%)	6,022 ± 0,115	4,978 ± 0,301	13,593 ± 0,642
Humidade (%)	93,970 ± 0,01	95,020 ± 0,01	84,620 ± 0,04
Cinzas (%)	0,484 ± 0,002	0,408 ± 0,001	0,788 ± 0,002
Proteínas (%)	1,010 ± 0,194	0,940 ± 0,207	8,120 ± 0,428
Gorduras (%)	0,100 ± 0,010	0,010 ± 0,001	0,100 ± 0,010
Lactose (%)	4,428 ± 0,126	3,620 ± 0,297	4,585 ± 0,114

O valor médio de pH da amostra de “soro inteiro” é de 6,55. Este valor é usual em soro com um nível reduzido de acidez e que é denominado por “soro doce” (Mizbuti, 1994). O valor da amostra de “soro desnatado” não apresentou variações consideradas significativas, o que nos indica que o processo de desnate não provoca alterações consideráveis neste parâmetro. Após o processo de ultrafiltração o pH da corrente de CLPS diminuiu ligeiramente (6,01). Esta diminuição pode ser justificada pela ação das bactérias lácticas presentes no soro inicial sobre a lactose, vez que este não foi pasteurizado. A hidrólise da lactose permite aumentar a disponibilidade da glicose que quando é metabolizada dá origem á formação de ácido láctico que provoca um acréscimo da acidez da amostra e conseqüentemente redução de pH (Silva, 1997).

A acidez titulável do soro, expressa em % ácido láctico, apresentou valor de 0,102% que vai ao encontro ao obtido por Henriques *et al.* (2012). Este valor manteve-se praticamente idêntico no caso do “soro desnatado” validando que o processo de centrifugação/desnate em nada alterou a acidez do soro. Contudo, após o processo de UF, a amostra de CLPS teve uma subida significativa de acidez, acompanhando a descida que tinha sido verificada no pH. O acréscimo de ácido láctico pode advir do fato da lactose se manter na amostra e ser metabolizada a ácido láctico.

A humidade e os sólidos totais podem ser analisados em conjunto uma vez que estão inversamente relacionados. A percentagem de sólidos totais da amostra de soro inteiro é de 6,022% e da mesma ordem de grandeza tendo em conta estudos anteriores (Mizbuti, 1994). A percentagem de humidade aumentou cerca de 1,05% após o processo de desnate, resultando também num conseqüente decréscimo do teor total de sólidos. Neste caso a eliminação da gordura no processo de centrifugação (Oliveira, 2011) contribuiu para esta diminuição. O inverso aconteceu após a ultrafiltração da amostra, onde o teor de sólidos aumentou 8,615%. Neste caso a eliminação da água filtrada pelas membranas, diminuiu a parte aquosa da amostra (Mizbuti, 1994) aumentando o seu teor de sólidos e conseqüente concentração.

O teor de cinzas inicial teve um valor esperado e diminuiu ligeiramente na passagem do soro pela centrífuga (Mizbuti, 1994). Já no caso do processo de concentração, a percentagem de cinzas no CLPS teve um acréscimo para aproximadamente o dobro (0,79%). Apesar dos sais minerais também serem eliminados através da membrana de UF, a sua associação com as proteínas do soro pode contribuir para a sua retenção e concentração durante este processo.

A nível da concentração em proteínas, o valor obtido para o soro foi o espectável (Mizbuti, 1994). Não houve qualquer tipo de alteração significativa após a centrifugação, uma vez que esta apenas elimina gordura (Oliveira, 2011). Após a ultrafiltração o teor proteico aumentou em cerca de oito vezes, uma vez que as proteínas permanecem retidas na membrana dando origem ao concentrado líquido de proteínas de soro (Diel, 1994). Este aumento na concentração de proteínas ficou muito aquém do valor esperado que seria aproximadamente de 19 vezes, de acordo com o fator de concentração volumétrica ($230/12=19$, volume soro desnatado/ volume de concentrado). Este facto pode em parte ser explicado pelo modo de funcionamento em descontínuo do equipamento de UF. Isto implica que para o CLPS ser removido do volume morto do equipamento tenha que ser “empurrado” por água e daí haver uma diluição no próprio concentrado final. Para obtenção de um produto com um teor de proteínas maior seria conveniente, proceder a um processo de diafiltração uma vez que um processo de osmose inversa (Desconsi, *et al.*, 2014) teria alguns inconvenientes relativos à possibilidade da colmatação da membrana. Este processo ajudaria a remover mais lactose e sais do CLPS uma vez que a sua diluição em água que permitiria a solubilização destes compostos e nova remoção através da membrana de ultrafiltração.

A percentagem de gordura do soro em estudo era um pouco mais reduzida do que apresentado em estudos anteriores (Mizbuti, 1994). Após passar na centrífuga a percentagem de gordura reduziu-se em 90%, ficando apenas com 0,01%. Este valor voltou a aumentar após o processo de ultrafiltração, uma vez que para além da retenção das proteínas também ocorre retenção da gordura (Diel, 1994). À semelhança do que aconteceu para as proteínas (concentração de aproximadamente oito vezes) a percentagem de gordura voltou a atingir valores na ordem dos 0,1% no concentrado final.

O resultado obtido para o teor de hidratos de carbono no soro inteiro (que corresponderá maioritariamente à lactose) também ficou dentro do esperado. Neste caso, obteve-se uma percentagem de lactose de 4,428%, sendo apenas 0,4% a menos do que o previsto por Mizbuti (1994). O soro desnatado apresentou um valor ligeiramente mais reduzido mas que não é considerado relevante. Já o valor obtido para o caso do CLPS (4,58%) apresentou também um valor idêntico ao já alcançado por estudos anteriores (Henriques, *et al.*, 2013).

IV.3. Análise às respostas dadas pelos inquiridos

Os resultados obtidos no inquérito estão apresentados na tabela 13, encontram-se expressos em percentagem de respostas e agrupados por local de inquérito.

Tabela 13 - Resultados expressos em percentagens do inquérito realizado.

Questões	Tipo de resposta	Locais		
		Ginásio	Jardim	C Comercial
1. Pratica exercício físico?	regular	70	43,3	6,7
	pontual	30	56,7	73,3
	raro	0	0	20
2. Toma suplementos?	sim	86,7	53,3	30
	não	13,3	46,7	70
3. Toma proteína “Whey”?	sim	80	40	23,3
	não	20	60	76,7
4. Toma Antioxidantes?	sim	26,7	10	3,3
	não	73,3	90	96,7
5. Aceitaria tomar suplemento misto?	sim	93,3	100	30
	não	0	0	20
	talvez	6,7	0	50

Pela análise da tabela 13 pode-se observar que o consumo de suplementos nutricionais está diretamente relacionado com a prática de exercício físico, quer sejam praticantes regulares ou pontuais. Quanto maior for o número de pessoas a treinar, maior será também o número de consumidores. Dos praticantes de exercício regular, ou seja, os inquiridos no ginásio, 86,7% afirmam tomar suplementos alimentares, valor que diminui para 53,3% para os inquiridos no jardim e 30% para os inquiridos no Centro comercial.

Outro aspeto significativo é que o consumo de proteínas provenientes do soro de leite já é bastante popular na forma desidratada. Aproximadamente 48% da totalidade dos inquiridos toma proteína de soro “*whey*”, sendo que 80% dos praticantes de ginásio se suplementam com este produto. Já o suplemento antioxidante conta com apenas 13% de consumidores, sendo que o valor mais significativo se verifica também para praticantes de ginásio. Apesar da utilização do suplemento antioxidante não ser muito elevada, os inquiridos quando confrontados com a hipótese de inserir na sua dieta um suplemento proteico com antioxidantes não tiveram uma reação negativa, onde apenas 6,7% da totalidade dos inquiridos afirmaram prontamente que não tomavam o suplemento em questão. De realçar que a ideia junto dos frequentadores de ginásio foi muito bem recebida e que apenas 2 dos inquiridos (6,7%) responderam “talvez”, os restantes 28 (93,3%) aceitariam complementar a sua dieta com o referido suplemento.

Capítulo V

Conclusão

A sociedade atual influencia-nos diariamente a atingir níveis de desempenho cada vez mais elevados (Greenwood, *et al.*, 2008). Num quotidiano com um horário cada vez mais intensivo e exigente, são muitas as pessoas que apresentam lacunas nas suas dietas alimentares. Por outro lado, o cansaço físico de um treino dos praticantes de exercício somado à rotina de emprego e trabalho pessoal, pode significar o insucesso do objetivo pretendido. Em ambos os casos, os suplementos alimentares podem ser o apoio fundamental para as lacunas alimentares e na recuperação pós-treino que tanto afetava no passado os praticantes de exercício físico. O mercado dos suplementos tem por isso evoluído e é hoje em dia um dos que apresenta maior desenvolvimento. Tornou-se essencial e inevitável uma evolução dos suplementos existentes, tendo em vista a colmatação das necessidades específicas de cada consumidor, sendo já inúmeras as opções disponíveis no mercado.

Neste trabalho, foi avaliada a possibilidade de produzir um suplemento alimentar que suprisse as necessidades diárias de praticantes de atividade física moderada a intensiva. Para tal, foi feito um trabalho de investigação e pesquisa tendo em vista a avaliação qualificativa dos constituintes necessários a cumprir o objetivo proposto.

O concentrado de soro de leite foi a matéria prima escolhida como fornecedora de proteínas para um desenvolvimento futuro do projeto, devido ao seu valor biológico (Hoffmann, 2003) e também pelo fato de ser considerado um dos maiores poluidores das águas residuais na indústria de laticínios (Brites, 2012), derivado à sua elevada carga orgânica.

Para obtenção dos antioxidantes foi escolhido como matéria-prima o morango que estava descrito na bibliografia (Quinato *et al.*, 2007) como um dos alimentos que os possuem em maior quantidade. Para além disso é um fruto que fica muito facilmente num estado que não permite a venda a fresco, causando perdas muito consideráveis aos produtores deste fruto, problema este que para além de económico também é ambiental, uma vez que os excessos de químicos utilizados na agricultura ficam a degradar-se em solos porosos a céu aberto contribuindo bastante para a poluição do planeta (Silva R. *et al.*, 2009).

Assim, achou-se possível criar um produto com elevada procura e com preço de mercado elevado apenas à base de produtos desperdiçados, arranando uma solução viável, ou seja uma segunda vida para estes subprodutos que de certa forma estão a afetar diretamente o presente e o futuro do nosso planeta.

Do inquérito realizado para avaliar a aceitação do produto no mercado, ficou demonstrada uma relação direta entre a prática de exercício físico e consumo de suplementos alimentares. Quanto mais regular é a prática desportiva, maior será o consumo de suplementos e a respetiva aceitação. Contudo, mesmo não praticantes, demonstraram-se informados acerca do assunto não colocando de parte o possível consumo de um suplemento proteico e antioxidante. Pode-se dizer que a aceitação do suplemento pela população inquirida foi muito satisfatória.

Para que o suplemento pudesse ser considerado como uma ideia viável, tornou-se essencial a validação da sua produção. Para tal foram usados subprodutos das indústrias agroalimentares que permitissem que o suplemento fosse competitivo no mercado mas que tivesse as características de qualidade e segurança desejadas.

Testaram-se em laboratório as matérias-primas e tomaram-se algumas decisões relativamente à apresentação do produto. Neste caso foi decidido que devia em pó, isto é, desidratado, não só por facilitar o modo de consumo como para ter um prazo de validade superior.

O primeiro subproduto a ser testado foi o morango, para o qual foram ensaiadas duas hipóteses de desidratação: secagem ou liofilização. Os resultados obtidos indicaram que o processo a utilizar seria a liofilização caso os fatores a considerar fossem o aspeto e a estabilidade do produto relacionada com a sua baixa humidade e atividade da água. O aspeto mais atrativo do morango liofilizado, a sua cor mais próxima do vermelho, textura mais macia e menos granulosa foram as características estéticas mais apreciadas. Ao nível da atividade e capacidade antioxidante, também a amostra de morango liofilizado superou a de morango desidratado, mas neste caso as diferenças foram insignificantes. Com esta observação, e tendo em conta que o processo de liofilização é bastante mais dispendioso em termos de equipamentos e energéticos, a sua utilização faria com que objetivo de diminuição dos custos de produção tendo em vista a competitividade no mercado não fosse possível. Neste sentido, sugere-se a utilização de um processo de secagem para o morango uma vez que é um processo barato, rápido e de fácil execução que mantém a presença e atividade dos compostos fenólicos do fruto. Quanto ao aspeto, visto que o morango seria triturado, a sua cor acabaria por não ter uma grande influência no produto final, bem como a sua textura. Contudo, ao compararmos os valores de atividade e presença de compostos fenólicos nos morangos aos de um comprimido antioxidante, verificou-se que havia muita

diferença na atividade antioxidante, fazendo com que a quantidade a aplicar por toma no suplemento tivesse de ser superior à que é aplicada no comprimido.

Quanto ao soro, conclui-se que o mesmo teria que passar sempre na desnatadeira, por forma de reduzir a gordura presente no soro “em bruto” que ainda é significativa. A nível proteico a concentração atingida deveria ser mais elevada do que se verificou neste trabalho prático, pois a percentagem de proteína alcançada não foi suficiente para produzir um suplemento competitivo no mercado. Neste sentido, e com o objetivo de aumentar o teor proteico no concentrado de proteínas de soro sugere-se a utilização da diafiltração ao invés da ultrafiltração.

Em jeito de conclusão final, trata-se de uma proposta considerada viável, já que se verificaram as condições necessárias para que um suplemento desta natureza possa vir a ser produzido e comercializado. Tornou-se claro que é possível criar um suplemento proteico e antioxidante de qualidade, à base de subprodutos da indústria alimentar a um preço mais reduzido do que os que existem na atualidade.

Ao nível de trabalho futuro ainda será necessário validar alguns ensaios e realizar outros. Começando pela fração proteica do produto, teriam de ser feitos alguns ensaios para se conseguir chegar ao máximo de concentração de proteínas possível a partir de uma amostra de soro em bruto. Quanto maior for a concentração proteica, mais competitivo será o produto face aos suplementos do mercado. Quanto ao teor antioxidante, seria interessante analisar o sabor do produto com morango desidratado e com morango liofilizado, sem qualquer tipo de aditivos. Por outro lado, também haveria interesse em analisar que outros frutos e/ou legumes, poderiam ser utilizados no suplemento, tendo em vista também o reaproveitamento na indústria hortofrutícola. Até que ponto se poderia fazer um misto de frutos e legumes desidratados e comparar a atividade e capacidade antioxidante dos mesmos, bem como o seu sabor, textura e cor. Seria fundamental chegar a um consenso relativamente ao sabor e textura finais com base numa análise sensorial feita por um grupo treinado de provadores. E posteriormente avaliar a sua aceitação ao nível do consumidor em geral para afinar o resultado final. Outra abordagem seria testar o produto numa amostra selecionada da população para avaliar os resultados físicos e respetiva eficácia do suplemento.

Capítulo VI

Bibliografía

Ainsworth E.; Gillespie K. **Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin–Ciocalteu reagent.** Nature protocols, Vol.2 (2007), p.875 – 877.

Aranha, L.. **Suplementos alimentares e novas tendências de consumo terapêutico: Aconselhamento baseado na evidência.** Lisboa: Escola Superior de Tecnologias da Saúde de Lisboa, 2011. [Acedido a 12.06.2015]. Disponível na Internet: <http://repositorio.ipl.pt/bitstream/10400.21/2354/1/Suplementos%20alimentares%20e%20novas%20tend%C3%AAncias%20de%20consumo%20terap%C3%AAutico.pdf>

Bianchi M.; Antunes, L. – **Free radicals and the main dietary antioxidants.** São Paulo: Universidade de São Paulo, 1999. [Acedido a 11.04.2015]. Disponível na Internet: <http://www.scielo.br/pdf/rn/v12n2/v12n2a01.pdf>

Bojanic A. – **Enquanto milhões passam fome, 1,3 bilhões de toneladas de comida é desperdiçado.** UOL Notícias. 2014, 06 de Maio. [Acedido a 20.06.2015]. Disponível na Internet: <http://noticias.uol.com.br/opinia/coluna/2014/05/06/enquanto-milhoes-passam-fome-13-bi-de-toneladas-de-comida-e-desperdicado.htm>

Braga, D. – **Qualidade pós-colheita de morangos orgânicos tratados com óleos essenciais na pré-colheita.** Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2012. [Acedido a 29.04.2015]. Disponível na Internet: http://repositorio.ufla.br/bitstream/1/477/1/DISSERTACAO_Qualidade%20p%C3%B3s-colheita%20de%20morangos%20org%C3%A2nicos%20tratados%20com%20%C3%B3leos%20essenciais%20na%20pr%C3%A9-colheita

Buricova, L., Andjelkovic, M., Reblova, Z., Jurcek, O., Kolehmainen, E., Verhe, R.; Kvasnicka, F. – **Antioxidant capacities and antioxidants of strawberry, blackberry and raspberry leaves.** Czech Journal of Food Sciences, Vol.29 n°2, (2011), [Acedido a 26.08.2015]. Disponível na Internet: <http://www.agriculturejournals.cz/publicFiles/37219.pdf>

Cabaça A. – **Mercado dos suplementos nutricionais à base de plantas em Portugal.** Lisboa: Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, 2014. [Acedido a 27.04.2015].

Disponível na Internet:
<http://recil.grupolusofona.pt/bitstream/handle/10437/4725/FINALISSIMO!.pdf?sequence=1>

Cardoso J., Martins J., Benites J., Conti T.; Sohn V. – **Uso de alimentos termogénicos no tratamento da obesidade**. Rio de Janeiro: Centro de Ciências da Saúde, 2010. [Acedido a 22.06.2015]. Disponível na Internet:
<http://www.nutricritical.com.br/core/files/figuras/file/Trabalho%20termog%C3%AAnicos%20Estag%20C%C3%AAssia.pdf>

Cheung M., Cheung K.; Ooi C. – **Antioxidant activity and total phenolic of edible mushroom extracts**. Food Chemistry, Vol. 81, nº2, 2003 p. 249-255.

Costa D. – **Caraterização e tratamento de efluentes resultantes da atividade de produção de queijo**. Lisboa: Universidade Nova de Lisboa, Faculdade de Ciências e Tecnologias, 2011. [Acedido a 26.08.2015]. Disponível na Internet:
http://run.unl.pt/bitstream/10362/5661/1/Costa_2011.pdf

Decreto de lei nº 136/2003 de 28 de Junho. Diário da República: I série, nº147, (2003) p.3724 - 3728 [Acedido a 03.05.2015]. Disponível na Internet:
http://www.segurancalimentar.com/leg_desc1.php?id=902

Desconsi A., Filho H.; Salazar R. – **Physicochemical and microbiological evaluation of concentrated whey obtained by reverse osmosis**. Rev. Ambient. Água vol.9 nº2 Taubaté Abril./Junho 2014.

DGS. **Nova Roda dos Alimentos**. – Portugal: Direção-Geral da Saúde, Ministério da Saúde, 2014. [Acedido a 20.06.2015]. Disponível na Internet: <http://www.dgs.pt/promocao-da-saude/educacao-para-a-saude/areas-de-intervencao/alimentacao.aspx>

Diel, F. – **Caracterização funcional de membranas cerâmicas de micro e ultrafiltração**. Porto Alegre: Federal de Rio Grande do Sul. [Acedido a 07.07.2015]. Disponível na Internet:
<https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/25892/000755209.pdf?sequence=1>

Dieta in Dicionário da Língua Portuguesa com Acordo Ortográfico [em linha]. Porto: Porto Editora, 2003-2015. [Acedido a 02.06.2015]. Disponível na Internet: <http://www.infopedia.pt/dicionarios/lingua-portuguesa/dieta>

Duarte R., Nicolau C., Silva N., Freitas K., Siquiera, R.; Cerqueira G. – **Consumption of food supplements for practitioners of physical activity of the city of Ico, CE: a cross sectional study** Rev. EFDeportes.com, Revista Digital. Buenos Aires, Ano 16, Nº 161, (2011). [Acedido a 3.06.2015]. Disponível na Internet: <http://www.efdeportes.com/efd161/consumo-de-suplementos-alimentares.htm>

Egan H., Kirk R.; Sawyer R. – **Pearson's Chemical Analysis of food**. 8ª edição. Inglaterra: Longman Group Limited, 1981. ISBN 0-582-00554-X

Ellena A., Vitaglione P., Intorre F., Napolitano A., Durazzo A., Foddai M., Fumagalli A., Catasta G., Rossi L., Venneria E., Raguzzin A., Palomb L., Fogliano V.; Maiani G. – **Bioavailability of strawberry antioxidants in human subjects**. Cambridge: British journal of nutrition, Vol.104, 8ª edição (2010), p. 1165-1173. [Acedido a 27.08.2015]. Disponível na Internet: http://journals.cambridge.org/download.php?file=%2FBJN%2FBJN104_08%2FS000711451000187Xa.pdf&code=a94935c2b7d00c009ea5e022a6df2e32

FAO, IFAD; WFP. – **The State of Food Insecurity in the World 2014: Strengthening the enabling environment for food security and nutrition**. 1ª edição. Roma: FAO. 2014. E-ISBN 978-92-5-108543-1

Ferla, N.J., Marchetti, M.M.; Gonçalves, D. – **Ácaros predadores (Acari) associados à cultura do morango (Fragaria sp., Rosaceae) e plantas próximas no Estado do Rio Grande do Sul**. Biota Neotrop vol. 7, nº 2, (2007). [Acedido a 27.04.2015] Disponível na Internet: <http://www.biotaneotropica.org.br/v7n2/pt/abstract?article+bn01807022007>

Ferreira, F; Cardoso, S. – **Ciência Viva no Laboratório: Protocolo-Determinação de Atividade Antioxidante; Método de DPPH**. Portugal: Coimbra, 2012.

Finzer, J.R.D.; Martins, J.R. – **Cristallization of lactose**. FAZU, Revista. Uberaba, n° 8, (2011) p. 83-88. [Acedido a 27.06.2015] Disponível na Internet: <http://www.fazu.br/ojs/index.php/fazuemrevista/article/view/273/265>

Françoso I., Couto M., Canniatti-Brazaca S.; Arthur V. – **Physical-chemical alterations in irradiated and stored strawberries**. Ciências Tecnologias Alimentos. Campinas, Vol.28, n° 3, (2008), p. 614-619. [Acedido a 20.04.2015]. Disponível na Internet: <http://www.scielo.br/pdf/cta/v28n3/a17v28n3.pdf>

FrutaFeia. – **Projeto Fruta Feia**. Portugal, 2015. [Acedido a 26.08.2015]. Disponível na Internet: <http://www.frutafeia.pt>

Galani, L. – **Obesidade e Pouco Sono Andam de Mãos Dadas**. Brasil; Hypescience, 2014. [Acedido a 28.06.2015]. Disponível na Internet: <http://hypescience.com/obesidade-e-pouco-sono-andam-de-maos-dadas/>

Greenwood M., Kalman D.; Antonio J. – **Nutritional Supplements in Sports and Exercise**. 1ª Edição. Totowa: Humana Press, 2008. ISBN 978-1-58829-900-0

Guimarães A., Oliveira C., Vieira G.; Pinto N. – **Physical and chemical quality of dried strawberry in diferente packages**. Engenharia na agricultura. Viçosa, Vol.22, n° 4, (2008) p. 306-316. [Acedido a 20.07.2015]. Disponível na Internet: <http://www.seer.ufv.br/seer/index.php/reveng/article/viewFile/554/337>

Hannah. – **Mini titulador e medidor de pH automático: Acidez titulável do sumo de fruta**. Portugal, (s.d.). [Acedido a 20.06.2015]. Disponível na Internet: http://www.hannacom.pt/pdf/hi_84432.pdf

Haraguchi F., Abreu W.; Paula H. – **Whey protein: composition, nutritional properties applications in sports and benefits for human health**. Revista Nutr. Caminas, Vol.19, n°4, (2006). [Acedido a 01.07.2015]. Disponível na Internet: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1415-52732006000400007&script=sci_arttext (Acedido a 01.07.2015)

Henriques M., Gomes D., Pereira C.; Gil M. – **Effects of liquid whey protein concentrate on functional and sensorial properties of set yogurts and fresh cheese.** Food and Bioprocess technology: An International Journal, Vol.6, nº4 (2013).

Hoffmann C. – **Estudo da utilização de concentrado proteico de soro de queijo ultrafiltrado (CPSU), em requeijão cremoso.** Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 2003. [Acedido a 02.05.2015]. Disponível na Internet: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1415-52732006000400007&script=sci_arttext

Litvin S., Mannheim C.; Miltz J. – **Dehydration of carrots by a combination of freeze drying, microwave heating and air or vacuum drying.** Journal of Food Engineering, Vol.36, nº1, (1998), p.103-111. DOI 10.1016/S0260-8774(98)00054-5

Macan L.; Piletti R. – **Avaliação Físico-química comparativa do morango (Albion), desidratado pelo métodos de secagem e liofilização.** Brasil: Universidade de extremo Sul Catarinense, 2013. [Acedido a 13.05.2015]. Disponível na Internet: <http://repositorio.unesc.net/bitstream/1/1806/1/Luana%20da%20Rosa%20Macan.pdf>

Lewis, M. – **Natural Product Screening: Anti-oxidant Screen for Extract.** E.U.A: University of Texas, 2012. [Acedido a 09.04.2015]. Disponível na Internet: <https://courses.cns.utexas.edu/BIOP411/wp-content/uploads/2012/09/15.3b-Natural-Product-Screening-Anti-oxidant-screen-DPPH-of-extract-Crude-Extract1.pdf>

Macrae E. – **Abuso de drogas: problema pessoal ou social?** Brasil: Universidade Federal da Bahia, 1998 [Acedido a 03.06.2015]. Disponível na Internet: <http://www.giesp.ffch.ufba.br/Textos%20Edward%20Digitalizados/22.pdf> (Acedido a 3.06.2015)

Marangon A.; Melo R. – **Protein ingest ans muscular mass gain.** Universitas Ciências da Saúde: UniCEUB , Vol.02, nº 2, (2004) p. 281-290. [Acedido a 11.06.2015]. Disponível na Internet: <http://www.publicacoesacademicas.uniceub.br/index.php/cienciasaude/article/view/541/361>

Marques, L. – **Liofilização de frutas tropicais**. Brasil: Universidade Federal de São Carlos, 2008 [Acedido a 13.04.2015]. Disponível na Internet: http://www.bdttd.ufscar.br/htdocs/tedeSimplificado/tde_arquivos/10/TDE-2009-10-23T085314Z-2508/Publico/2148.pdf

Marshall K. – **Therapeutic applications of whey protein**. *Alternative Medicine Review*, Vol. 9, nº 2 (2004) p.136-156. [Acedido a 27.08.2015]. Disponível na Internet: http://www.anafar.gr/img/cms/whey%20proteinTherapeutic%20applications_1.pdf

Mizubuti, I. – **Soro de leite: composição, processamento e utilização na alimentação**. *Semina, Ciências Agrárias, Londrina*, Vol.15, nº 1, (1994) p. 80-94. [Acedido a 20.06.2015]. Disponível na Internet: <http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/semagrarias/article/view/5030/4506>

Navas F, Córdova A. – **Os Radicais Livres e o Dano Muscular Produzido pelo Exercício: Papel dos Antioxidantes**. *Revista Brasileira de Medicina do Desporto* Vol.6 nº5 Taubaté Setembro/Outubro 2000.

Norma Portuguesa NP 469. **Leites: Determinação da matéria gorda (técnica de Gerber)**. 1ª Edição. Portugal: Instituto Português da Qualidade, 1983.

Norma Portuguesa NP 470. **Leites: Determinação da acidez**. 1ª Edição. Portugal: Instituto Português da Qualidade, 1983.

Norma Portuguesa NP 475. **Leites: Determinação do resíduo seco isento de matéria gorda**. 1ª Edição. Portugal: Instituto Português da Qualidade, 1983.

Norma Portuguesa NP 477. **Leites: Determinação do teor de cinza total**. 2ª Edição. Portugal: Instituto Português da Qualidade, 1983.

Norma Portuguesa NP 785. **Derivados de frutos agrícolas e de produtos hortícolas: Determinação do resíduo seco solúvel**. 2ª Edição. Portugal: Instituto Português da Qualidade, 1985.

Norma Portuguesa NP 1421. **Géneros alimentícios derivados de frutos e de produtos hortícolas.** Determinação da acidez. 1ª Edição. Portugal: Instituto Português da Qualidade, 1977.

Oliveira, E. – **Processamento de produtos de origem animal 4.9 Creme de leite e manteiga.** Brasil: Universidade do Pampa, 2011. [Acedido a 30.06.2015]. Disponível na Internet: <http://cursos.unipampa.edu.br/cursos/engenhariadealimentos/files/2011/03/4.9-creme-de-leite-e-manteiga.pdf>

Oliveira V., Afoso M.; Costa J. – **Physico chemical and hygroscopic behavior of sapodilla lyophilized.** Revista Ciência Agronômica: Centro de Ciências Agrárias, Vol. 42, nº 2, (2011). p.342-348. ISSN 1806-6690. [Acedido a 26.08.2015] Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rca/v42n2/a12v42n2.pdf>

Palha M., Campo J.; Oliveira P. – **Morango: Produção de Outono com diferentes materiais de propagação vegetativa.** Divulgação Agro 556, nº4, Novembro de 2007. [Acedido a 23.04.2015]. Disponível na Internet: http://www.inia.pt/fotos/gca/4_morango_producao_de_outono_com_1369130502....pdf

Quinato E., Degáspari H.; Vilela M. – **Soro de leite: composição, processamento e utilização na alimentação.** Curitiba, Visão Académica, Vol.8, nº 1, (2007) p. 11-17. ISSN 1518-5192 [Acedido a 20.06.2015]. Disponível na Internet: em: <http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/semagrarias/article/view/5030/4506>

Read H.; Graney S. **Food supplement usage by the elderly.** Journal of the American Dietetic Association, Vol 80, nº3, (1982) p.250-253. PMID:7056973

Rocha L.; Pereira M. – **Consumo de Suplementos Nutricionais por Praticantes de Exercícios Físicos em Academias.** Brasil: Campinas. Vol. 11, nº1, (1998).

Rosegrant M., Cai X.; Cline S. – **Global water Outlook to 2025.** Averting na Impending crisis. E.U.A, Washington D.C: IFPRI, 2002. ISBN 0-89629-646-6

Royte E. – **O preço do desperdício de comida.** National Geographic Portugal, 2014. [Acedido a 26.08.2015]. Disponível na Internet: <http://www.nationalgeographic.pt/index.php/artigos-arquivados/arquivo/72-161/256-o-pre%C3%A7o-do-desperd%C3%ADcio-de-comida>

Silva A. – **Triatleta: alimentação e nutrição.** Brasil: Universidade Atlântica, 2012 [Acedido a 29.05.2015]. Disponível na Internet: http://repositorio-cientifico.uatlantica.pt/jspui/bitstream/10884/468/1/App_ALS_V%20Curso%20de%20Treinadores%20de%20Triatlo%20de%20n%C3%ADvel%20II_2011.pdf

Silva, D. – **R esíduos na Indústria de Laticínios.** Brasil: Universidade Federal de Viçosa, 2011. [Acedido a 30.06.2015]. Disponível na Internet: <https://www2.cead.ufv.br/sgal/files/apoio/saibaMais/saibaMais2.pdf>

Silva, P. – **Leite: aspectos de composição e propriedades.** EPAMIG, Química e Sociedade, n° 6, (2007) p. 3-5. [Acedido a 01.07.2015]. Disponível na Internet: em: <http://qnesc.sbg.org.br/online/qnesc06/quimsoc.pdf>

Silva R., Ramos L., Fleck L., Freiry J., Pereira C., Mello K.; Leopoldo S. – **Contaminação do solo através da agricultura.** Brasil: UniSin, 2009 [Acedido a 03.07.2015]. Disponível na Internet: <http://www.ebah.pt/content/ABAAAAa94AB/contaminacao-solo-pela-agricultura>

Seabra, I. – **Protocolo-Determinação do conteúdo total em compostos fenólicos; Método de Folin-Ciocalteu.** Portugal: Coimbra, Departamento de Ciência e Tecnologia Alimentar, Escola Superior Agrária de Coimbra, 2012.

Szabo M., Idoiou C., Chambre D.; Lupea A. – **Improved DPPH Determination for Antioxidant Activity Spectrophotometric Assay.** Slovak Academy of Sciences, Institute of Chemistry: Chem.Pap, Vol. 61 n°3, (2007), p.214-216. [Acedido a 08.07.2015]. Disponível na Internet: <http://www.degruyter.com/view/j/chempap.2007.61.issue-3/s11696-007-0022-7/s11696-007-0022-7.xml>

Tang E.; Phillips M. – **Maximizing muscle protein anabolism: the role of protein quality.** Current opinion in clinical nutrition and metabolic care, Vol.12, n°1, (2009), p.66-71 doi: 10.1097/MCO.0b013e32831cef75

Tetrapak Dairy Index. – **Uma fonte semestral de notícias e de informações sobre a indústria de laticínios: foco nos mercados emergentes.** 1ª edição. Brasil: Tetrapak, 2009. [Acedido a 30.06.2015]. Disponível na Internet: http://edit.tetrapak.com/br/documents/DairyIndex_Brasil_jun2009.pdf

Tunick M. – **Whey processing functionality and health benefits.** 1ª edição. E.U.A: Institute of Food Technologists, 2008. ISBN SF275.W5W55

Unilever. – **Geração Saúde.** Brasil: Unilever, 2012. [Acedido a 20.05.2015]. Disponível na Internet: http://www.unilever.com.br/Images/Ades_tcm95-162533.pdf

Vieites R., Evangelista R., Silva C.; Martins M. – **Conservação do morango armazenado em atmosfera modificada.** Semina: Ciências Agrárias, Londrina, Vol. 27, nº 2, (2006) p. 243-252.

Vizzotto M. – **Propriedades funcionais das pequenas frutas.** Informe Agropecuário, Belo Horizonte, Vol. 33, nº 268, (2012) p.84-88. [Acedido a 23.04.2015] Disponível em: <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/69753/1/Marcia-Vizzotto-p84-88.pdf>

WHO. – **The World Health Report: Reducing risks, promoting healthy life.** Geneva: World Health Organization, 2002. [Acedido a 26.08.2015]. Disponível na Internet: http://www.who.int/whr/2002/en/whr02_en.pdf?ua=1

Young B.; Bilby E. – **The Effect of Voluntary Effort to Influence Speed of Contraction on Strength, Muscular Power, and Hypertrophy Development.** Journal of Strength & Conditioning Research, Vol.7 nº3, (1993). [Acedido a 27.08.2015] Disponível em: http://journals.lww.com/nsca-jscr/abstract/1993/08000/the_effect_of_voluntary_effort_to_influence_speed.9.aspx