



Tânia Isabel Bragança Ribeiro

Licenciatura em Bioquímica

Desenvolvimento de um novo conceito de refrigerante

Dissertação para obtenção de grau de mestre em Tecnologia e Segurança Alimentar –
Qualidade Alimentar

Orientador: Fernando Lidon, Professor Doutor, FCT/UNL

Co - Orientador: Miguel Cancela, Engenheiro, UNICER – Bebidas, S.A.

Júri:

Presidente: Doutora Benilde Simões Mendes

Vogais: Doutora Maria Paula Amaro de Castilho Duarte

Doutora Maria Fernanda Guedes Pessoa

Doutor Fernando Jose Cebola Lidon

Engenheiro José Miguel Vieira Cancela



FACULDADE DE
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA

Dezembro, 2011

“Desenvolvimento de um novo conceito de refrigerante” Copyright ©, Tânia Isabel Bragança Ribeiro, FCT/UNL e UNL.

A Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade Nova de Lisboa tem o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objectivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor

Agradecimentos

Os meus agradecimentos terão de ser dirigidos, em primeiro lugar, à UNICER, pela forma como colocou à minha disposição todos os meios técnicos e humanos e sem a qual não teria sido possível a realização desta tese.

Foram muitas as pessoas que me apoiaram na execução deste trabalho e a quem estou profundamente grata. Não pretendo esquecer ninguém torna-se, no entanto, importante que algumas delas sejam aqui salientadas pelo seu contributo para o desenvolvimento do trabalho agora apresentado.

À Professora Benilde Mendes, Professora Coordenadora do Mestrado em Tecnologia e Segurança Alimentar da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa, agradeço por ter aprovado de bom agrado o tema desta tese e por zelar pelos interesses dos seus alunos de Mestrado.

Ao orientador interno, Professor Fernando Lidon, começo por agradecer a confiança e o apoio que, no meio dos seus muitos afazeres, me proporcionou. Agradeço-lhe igualmente todos os conhecimentos transmitidos no decorrer deste processo e que contribuíram para a minha formação.

Ao orientador externo, Eng. Miguel Cancela, agradeço os conhecimentos transmitidos no decorrer deste trabalho e a disponibilidade e simpatia com que sempre me apoiou.

Aos colaboradores do Departamento de Inovação e Desenvolvimento da Unicer, reservo um muito obrigada pela forma com que me receberam no seu grupo de trabalho e me ajudaram a contornar as dificuldades.

À Eng. Sofia Hespanhol pelo apoio incondicional e amizade que muito me ajudaram na conclusão desta dissertação.

Às amigas Rosana Ferreira, Marília de Sousa e Carla Cunha por estarem sempre presentes quando necessito delas e pelos ótimos momentos que passamos juntas.

Aos meus restantes amigos, que eles sabem quem são, por sempre acreditarem em mim.

Por último, e não sendo os menos importantes, aos meus pais e irmãos pelo apoio e pela força que sempre me deram para concluir este mestrado.

Resumo

A indústria de refrigerantes e sumos é um subsector da indústria de bebidas não-alcoólicas, de grande impacto na economia e elevada competitividade. O desenvolvimento de novos produtos e a garantia de qualidade dos produtos são de extrema importância nesta indústria. Actualmente, o consumidor é bastante preocupado com a saúde, procurando produtos que possam não comprometer e/ou impulsionar o seu “bem-estar”. Surge assim, a tendência das bebidas funcionais. Contudo, o consumidor não está disposto a comprometer o sabor da bebida, pelo que a formulação deve ter em conta os ingredientes funcionais e quantidades a utilizar destes, de modo a garantir os benefícios da bebida, sem prejudicar as características sensoriais. As bebidas desportivas são um segmento de bebidas funcionais que tem pouca visibilidade no mercado português. Mas as crescentes preocupações de saúde e maior prática de exercício, têm levado a que sejam consumidas não só por atletas, mas também pelo consumidor comum, prevendo-se um crescimento deste segmento. Tal como em todas as bebidas, a funcionalidade das bebidas desportivas tem vindo a aumentar. As proteínas de soro de leite (PSL's) são um óptima estratégia para obter uma bebida desportiva, que para além de fornecer hidratação e melhor desempenho físico, permitem reduzir o tempo para a fadiga muscular e as dores associadas a esta. A bebida formulada no presente estudo apresenta na sua composição PSL's (2%), frutose (2,5%) e xarope de sacarose (5,65%). Esta bebida apresenta benefícios como melhorar o processo de recuperação e a performance. Efectuou-se ainda a formulação de bebida com 5% (m/v) de PSL's e de um suplemento efervescente que permite obter a bebida de 5% (m/v) a partir da bebida com 2% (m/v) de PSL's. A bebida enriquecida com 2% PSL's foi considerada satisfatória nos aromas de laranja e ananás – coco.

Termos – Chave: Refrigerantes, Bebidas funcionais, Bebidas desportivas, Proteínas de soro de leite, Isolado de proteína de soro de leite, Fórmulas efervescentes.

Abstract

The juices and soft drinks industry is a subset of non - alcoholic beverage industry with high impact in the economy and highly competitive. The development of new products and ensuring product quality are extremely important in this industry. Currently, the consumer is very concerned with health, looking for products that can not commit and/or boost your "well - being." Thus arises, the tendency of functional beverages. However, the consumer is not willing to compromise the flavor, so the design must take into account the functional ingredients and quantities to use them, to ensure the benefits of the drink, without affecting the sensory characteristics. Sports drinks are a functional beverage segment with little visibility in the Portuguese market. But the growing health concerns and the increase of exercise training have increased the consume of sports drinks not only by athletes but also by ordinary consumers, so it is expected a growing of this segment. As in all drinks, the functionality of sports drinks have been increased. The whey protein (WP's) are an optimal strategy for functional sports drink formulation's, which in addition to providing hydration and better physical performance, allow to reduce time for muscle fatigue and the pain associated with fatigue. The drink have a composition of WP's (2%), fructose (2.5%) and sucrose syrup (5.65%). This drink provides benefits such as improvement of performance and better recovery process. It was still made the formulating of a drink with 5% (w/v) of WP's and a effervescent supplement that can be added to the drink with 2% WP's for obtain the drink with 5% (w/v) of WP's . The drink enriched with 2% WP's was considered satisfactory in the aromas of orange and pineapple - coconut.

Keywords: Soft drinks, Functional drinks, Sports drinks, Whey protein, Whey protein isolate, Effervescent formulas.

Índice de matérias

Agradecimentos	V
Resumo	VII
Abstract.....	IX
Índice de matérias	XI
Índice de figuras	XV
Índice de tabelas.....	XVII
Lista de Abreviaturas	XXI
I. Introdução.....	1
1. Enquadramento e Apresentação do Projecto	1
2. Contributos do Trabalho.....	4
II. A empresa	7
1. Unicer – Bebidas de Portugal, SGPS, S.A.....	7
1.1. Marcas.....	7
1.2. Breve revisão histórica	8
1.3. A Unicer no mercado de Sumos e Refrigerantes	9
1.3.1. Marcas de refrigerantes	10
III. Estado da Arte	13
1. Refrigerantes	13
1.1. Ingredientes dos refrigerantes	15
1.1.1. Água.....	15
1.1.2. Açúcares e Edulcorantes	17
1.1.3. Acidulantes	19
1.1.4. Aromas.....	20
1.1.5. Corantes	21
1.1.6. Conservantes.....	21
1.1.7. Outros ingredientes funcionais	23
1.2. Análises na indústria de refrigerantes	24
1.2.1. Brix.....	24

1.2.2.	Acidez titulável e o pH	26
1.2.3.	Análise sensorial.....	26
1.3.	Processo industrial	28
2.	<i>Mercado de refrigerantes</i>.....	31
3.	<i>Tendências no mercado de refrigerantes</i>.....	33
3.1.	Bebidas desportivas	39
3.2.	Bebidas desportivas mais funcionais.....	44
3.3.	Bebidas desportivas enriquecidas com proteínas de soro de leite.....	46
3.3.1.	Características dos diferentes produtos de proteínas de soro de leite	48
3.3.2.	Benefícios das proteínas de soro de leite	50
3.3.3.	Formulação de bebidas com proteínas de soro de leite	54
3.4.	Bebidas em pó e em pastilhas efervescentes	59
IV.	<i>Conceito a desenvolver</i>	63
1.	<i>Análise de mercado: Shopping</i>	63
2.	<i>Conceito</i>	67
V.	<i>Materiais e Métodos</i>	73
1.	<i>Materiais</i>	73
1.1.	Elaboração das formulações.....	73
2.	<i>Métodos</i>	75
2.1.	Análise de bebidas desportivas presentes no mercado.....	75
2.2.	Escolha de matérias – primas: Ensaio de dissolução dos isolados de proteína de soro 75	
2.3.	Formulação da bebida.....	75
2.3.1.	Formulação – base com os vários isolados de proteína de soro de leite	77
2.3.2.	Formulação da bebida com 2% proteínas de soro de leite	77
2.3.3.	Formulação da bebida com 5% proteínas de soro de leite	79
2.4.	Tratamento térmico	81
2.5.	Formulação do pó	81
2.6.	Análises físico-químicas.....	82
2.7.	Análise sensorial	84

2.8. Ensaio de estabilidade	85
2.9. Análise estatística	85
VI. Resultados e Discussão	87
1. Ensaio de dissolução dos isolados de proteína de soro.....	87
2. Análises Físico – químicas.....	89
2.1. Formulação – base.....	89
2.2. Formulações com 2% proteínas de soro de leite	91
2.3. Formulações com 5% proteínas de soro de leite	97
2.4. Comparação das formulações com 2% proteínas de soro de leite e 5% proteínas de soro de leite.....	100
2.5. Ensaio de estabilidade.....	103
3. Formulação do pó.....	106
4. Análise sensorial	108
4.1. Formulação – base	108
4.2. Formulações com 2% proteínas de soro de leite	109
4.3. Formulações com 5% proteínas de soro de leite	111
4.4. Ensaio de estabilidade.....	113
VII. Conclusão	115
VIII. Bibliografia.....	119
IX. ANEXOS	127
ANEXO I – Boletim da análise sensorial.....	127
ANEXO II – Terminologia para descrever impressões de aroma/ gosto	128
ANEXO III – Resultados das análises sensoriais.....	129

Índice de figuras

<i>Figura 2.1 - Marcas comercializadas pela Unicer</i>	<i>8</i>
<i>Figura 3.1 - Processo normal de produção e embalagem asséptico e não-asséptico de um refrigerante.....</i>	<i>29</i>
<i>Figura 3.2 - Esquema da produção de refrigerantes desde a preparação do xarope simples até ao enchimento.....</i>	<i>30</i>
<i>Figura 3.3. - Sectores e segmentos da indústria de bebidas.....</i>	<i>31</i>
<i>Figura 3.4 - Bebida funcional Sunlover.</i>	<i>38</i>
<i>Figura 4.1 – Exemplos de bebidas desportivas.....</i>	<i>63</i>
<i>Figura 4.2 – Exemplos de bebidas desportivas com proteínas de soro de leite.....</i>	<i>64</i>
<i>Figura 4.3 – Protótipos dos rótulos para a bebida com 2% PSL.....</i>	<i>68</i>
<i>Figura 5.1 – Gráfico representativo da diferente constituição proteica e aminoácídica dos diferentes IPS.....</i>	<i>74</i>
<i>Figura 5.2 – Esquema de produção das formulações das bebidas de proteína de soro de leite.....</i>	<i>76</i>
<i>Figura 6.1 - Soluções dos isolados de proteína de soro com uma concentração de 1% proteína.....</i>	<i>88</i>
<i>Figura 6.2 – Valores de Brix (°B) das formulações-base antes e após a pasteurização.....</i>	<i>90</i>
<i>Figura 6.3 - Valores de turvação (NTU) das formulações-base antes e após a pasteurização.....</i>	<i>90</i>
<i>Figura 6.4 - Valores de pH e acidez titulável das formulações-base.....</i>	<i>91</i>
<i>Figura 6.5 - Valores de Brix (°B) das formulações com 2% PSL antes e após a pasteurização.....</i>	<i>92</i>
<i>Figura 6.6 - Valores de turvação (NTU) das formulações com 2%PSL antes e após a pasteurização.....</i>	<i>93</i>
<i>Figura 6.7 - Valores de Brix (°B) e turvação (NTU) de todas as formulações com 2% PSL.....</i>	<i>94</i>
<i>Figura 6.8 - Valores de pH e acidez titulável (g/100 mL ácido cítrico anidro) de todas as formulações com 2% PSL.....</i>	<i>94</i>
<i>Figura 6.9 - Valores de Brix (°B) das formulações com 2% PSL, analisadas pelo painel de provadores oficial, nos vários aromas.....</i>	<i>95</i>
<i>Figura 6.10 - Valores de turvação (NTU) das formulações com 2% PSL, analisadas pelo painel de provadores oficial, nos vários aromas</i>	<i>96</i>
<i>Figura 6.11 - Valores de pH das formulações com 2% PSL, analisadas pelo painel de provadores oficial, nos vários aromas.....</i>	<i>96</i>
<i>Figura 6.12 - Valores de acidez titulável (g/100 mL ácido cítrico anidro) das formulações com 2% PSL, analisadas pelo painel de provadores oficial, nos vários aromas</i>	<i>97</i>

<i>Figura 6.13 - Valores de Brix (°B) da formulação com 5% PSL antes e após a pasteurização.....</i>	<i>98</i>
<i>Figura 6.14 - Valores de turvação (NTU) da formulação com 5% PSL antes e após a pasteurização</i>	<i>98</i>
<i>Figura 6.15 - Valores de Brix (°B) e turvação (NTU) das formulações com 5% PSL</i>	<i>98</i>
<i>Figura 6.16 - Valores de pH e acidez titulável (g/100 mL ácido cítrico anidro) das formulações com 5% PSL.....</i>	<i>99</i>
<i>Figura 6.17 - Valores de Brix (°B) e turvação (NTU) das formulações com 5% PSL nos vários aromas.....</i>	<i>100</i>
<i>Figura 6.18 - Valores de pH e acidez titulável (g/100 mL ácido cítrico anidro) das formulações com 5% PSL nos vários aromas.</i>	<i>100</i>
<i>Figura 6.19 - Variação dos factores físico - químicos da bebida conforme a concentração de proteínas de soro de leite.</i>	<i>101</i>
<i>Figura 6.20 - Variação do Brix (°B) ao longo do ensaio de estabilidade.....</i>	<i>105</i>
<i>Figura 6.21 - Variação da turvação (NTU) ao longo do ensaio de estabilidade.</i>	<i>105</i>
<i>Figura 6.22 - Variação do pH ao longo do ensaio de estabilidade.</i>	<i>105</i>
<i>Figura 6.23 - Variação da acidez titulável (g/100 mL ácido cítrico anidro) ao longo do ensaio de estabilidade.</i>	<i>106</i>
<i>Figura 6.24 – Aspecto das bebidas obtidas por dissolução de proteína (A), da formulação do suplemento E₂ (B), da formulação do suplemento G₂ (C) e da formulação do suplemento E₃ (D) na bebida 2% PSL.</i>	<i>108</i>
<i>Figura 6.25 – Formulações – base com os vários isolados de proteína de soro com uma concentração de 5% PSL.....</i>	<i>108</i>
<i>Figura 6.26 – Aspecto das amostras sujeitas ao ensaio de estabilidade.....</i>	<i>114</i>

Índice de tabelas

<i>Tabela 3.1. - Categorias de refrigerantes segundo a legislação vigente e exemplos destas categorias no portefólio de marcas da Unicer</i>	<i>14</i>
<i>Tabela 3.2. - Ingredientes utilizados no fabrico de refrigerantes, segundo a Portaria nº703/96 de 6 de Dezembro.....</i>	<i>16</i>
<i>Tabela 3.3 - Especificações físico - químicas da água para a produção de refrigerantes</i>	<i>17</i>
<i>Tabela 3.4 - Propriedades dos açúcares</i>	<i>18</i>
<i>Tabela 3.5 - Propriedades físicas - químicas e regulamentares dos edulcorantes</i>	<i>19</i>
<i>Tabela 3.6 - Acidulantes utilizados nos refrigerantes.</i>	<i>20</i>
<i>Tabela 3.7 - Conservantes utilizados nos refrigerantes e os respectivos sais e limites indicados no Decreto – Lei 193/2000, de 18 de Agosto.....</i>	<i>22</i>
<i>Tabela 3.8 – Bebidas comerciais - Europa Ocidental.</i>	<i>32</i>
<i>Tabela 3.9 - Bebidas comerciais – Portugal.....</i>	<i>33</i>
<i>Tabela 3.10 - Influência na osmolalidade dos vários ingredientes de uma bebida desportiva.....</i>	<i>42</i>
<i>Tabela 3.11 - Quantidades de ingredientes recomendada para a formulação de uma bebida desportiva típica</i>	<i>43</i>
<i>Tabela 3.12 - Formas das proteínas de soro de leite disponíveis comercialmente.....</i>	<i>49</i>
<i>Tabela 3.13 - Alegações de saúde associadas as proteínas de soro de leite e as respectivas condições de uso.</i>	<i>50</i>
<i>Tabela 3.14 - Perfil de aminoácidos aproximado de algumas PSL's disponíveis comercialmente (g/100g de proteínas)</i>	<i>54</i>
<i>Tabela 4.1 - Ingredientes, composição nutricional e preço das principais bebidas desportivas prontas-a-beber existentes em Portugal.....</i>	<i>65</i>
<i>Tabela 4.2 - Características físico - químicas de algumas bebidas desportivas existentes no mercado português.....</i>	<i>65</i>
<i>Tabela 4.3 - Valores de pH e de percentagem de proteína de bebidas ácidas fortificadas com proteínas de soro de leite, segundo um estudo de mercado.....</i>	<i>66</i>
<i>Tabela 4.4 - Valores de pH e de percentagem de proteína de bebidas neutras fortificadas com proteínas de soro de leite, segundo um estudo de mercado.....</i>	<i>66</i>
<i>Tabela 4.5 - Composição da bebida desportiva enriquecida com 2% proteína.....</i>	<i>69</i>
<i>Tabela 4.6 - Composição da bebida enriquecida com 5% proteína.....</i>	<i>70</i>

<i>Tabela 5.1 – Características dos isolados de proteína de soro de leite utilizados.....</i>	<i>73</i>
<i>Tabela 5.2 - Ingredientes utilizados nas várias formulações efectuadas no decorrer do processo de desenvolvimento da bebida desportiva.....</i>	<i>74</i>
<i>Tabela 5.3 - Quantidades de isolado de proteína de soro (g) para obtenção de soluções de proteína a 1% (m/V) dos diferentes isolados.....</i>	<i>75</i>
<i>Tabela 5.4 - Formulações – base para a bebida com 5% proteína de soro de leite.....</i>	<i>77</i>
<i>Tabela 5.5 - Formulações para as bebidas enriquecidas com 2% PSL.....</i>	<i>78</i>
<i>Tabela 5.6 - Aromas e quantidade aromas utilizados nas diferentes formulações com 2% PSL.....</i>	<i>79</i>
<i>Tabela 5.7 - Formulações para as bebidas enriquecidas com 5% PSL.....</i>	<i>80</i>
<i>Tabela 5.8 - Aromas e quantidade aromas utilizados nas diferentes formulações com 5% PSL.....</i>	<i>80</i>
<i>Tabela 5.9 - Formulações do pó efervescente (Ensaio com 250 mL de bebida).....</i>	<i>82</i>
<i>Tabela 5.10 - Escala de avaliação global da bebida e escala de pesos atribuídas aos termos de análise sensorial.....</i>	<i>85</i>
<i>Tabela 6.1 – Propriedades físico – químicas das soluções (250 mL) de isolados de proteína de soro com 1% proteína.....</i>	<i>87</i>
<i>Tabela 6.2 - Resultados das análises físico - químicas das cinco formulações - base utilizando os diferentes IPS's</i>	<i>89</i>
<i>Tabela 6.3 - Resultados das análises físico-químicas às cinco formulações com 2% PSL.....</i>	<i>92</i>
<i>Tabela 6.4 - Resultados das análises físico - químicas às formulações com 2% PSL sujeitas à análise sensorial pelo painel de provadores oficial, nos vários aromas.....</i>	<i>95</i>
<i>Tabela 6.5 - Resultados das análises físico - químicas às cinco formulações com 5% PSL.....</i>	<i>97</i>
<i>Tabela 6.6 - Resultados das análises físico - químicas à formulações com B₄⁺ (5% PSL) nos vários aromas.....</i>	<i>99</i>
<i>Tabela 6.7 - Resultados das análises físico - químicas das formulações A₁, A₁⁺, A₃ e A₃⁺.....</i>	<i>101</i>
<i>Tabela 6.8 - Resultados das análises físico-químicas das amostras submetidas ao ensaio de estabilidade.....</i>	<i>104</i>
<i>Tabela 6.9 – Resultados da medição do pH das soluções de bebida 2% PSL com as várias formulações de pó efervescente (Ensaio com 250 mL de bebida).....</i>	<i>107</i>
<i>Tabela 9.1. - Resultados da análise sensorial efectuada pelo painel de afinação às formulações - base com os vários isolados.....</i>	<i>129</i>
<i>Tabela 9.2 - Resultados da análise sensorial efectuada á formulação A1 pelo painel de provadores de afinação.....</i>	<i>130</i>

<i>Tabela 9.3 - Resultados da análise sensorial efectuada á formulação A2 pelo painel de provadores de afinação.....</i>	<i>130</i>
<i>Tabela 9.4 - Resultados da análise sensorial efectuada á formulação B1 pelo painel de provadores de afinação.....</i>	<i>131</i>
<i>Tabela 9.5 -. Resultados da análise sensorial efectuada á formulação C1 pelo painel de provadores de afinação.....</i>	<i>132</i>
<i>Tabela 9.6 - Resultados da análise sensorial efectuada á formulação A2 pelo painel de provadores oficial.....</i>	<i>133</i>
<i>Tabela 9.7 -. Resultados da análise sensorial efectuada á formulação A2, A3 e A4 pelo painel de provadores oficial.....</i>	<i>134</i>
<i>Tabela 9.8 - Resultados da análise sensorial efectuada á formulação A⁺₁ pelo painel de afinação.</i>	<i>135</i>
<i>Tabela 9.9 - Resultados da análise sensorial efectuada á formulação A⁺₃ pelo painel de afinação.....</i>	<i>135</i>
<i>Tabela 9.10 -Resultados da análise sensorial efectuada á formulação B+3 pelo painel de afinação.....</i>	<i>136</i>
<i>Tabela 9.11 -. Resultados da análise sensorial efectuada á formulação C+3 pelo painel de afinação... </i>	<i>136</i>
<i>Tabela 9.12 -.Resultados da avaliação sensorial das amostras do ensaio de estabilidade sujeitas à temperatura de 27°C.....</i>	<i>137</i>
<i>Tabela 9.13 - .Resultados da avaliação sensorial das amostras do ensaio de estabilidade sujeitas à temperatura de 37°C.....</i>	<i>137</i>
<i>Tabela 9.14 -.Resultados da avaliação sensorial das amostras do ensaio de estabilidade sujeitas à temperatura de 47°C.....</i>	<i>138</i>

Lista de Abreviaturas

AA – aminoácidos

AAE – aminoácidos essenciais

AANE – aminoácidos não essenciais

AACR – aminoácidos de cadeia ramificada

ACA – ácido cítrico anidro

BHA - butil-hidroxianisol

BHT - butil-hidroxitolueno

CPS – concentrado de proteínas de soro de leite

CTI – cromatografia de troca iônica

EFSA - European Food Safety Authority

GSH - glutathiona

IAA – indústrias agro - alimentares

IPS – isolado de proteínas de soro de leite

MFSA - microfiltração de fluxo cruzado

PET – politereftalato de etileno

pH - potencial hidrogeniônico

pI – ponto isoelétrico

PM – peso molecular

PS – proteínas salivares

PSL – proteínas de soro de leite

qs - quantum satis

I. Introdução

1. Enquadramento e Apresentação do Projecto

Os refrigerantes e sumos de fruta são matérias alimentares produzidos e distribuídos em quase todos os países do mundo. A indústria de refrigerantes e sumos apresenta - se como uma indústria de grande magnitude, de grande impacte na economia mundial e influência na vida da população em geral. Em média, nos Estados Unidos da América, cada pessoa consome 70 litros de refrigerante por ano, o que se traduz num consumo anual de 350 litros por ano numa família de 5 pessoas, e na compra de 1 litro de refrigerante em todos os dias do ano (Shacman, 2005a).

Em termos genéricos, os refrigerantes e sumos de frutas são aceites como bebidas não - alcoólicas adoçadas à base de água, normalmente aromatizadas e que apresentam cor. É ainda comum conterem uma certa quantidade de sumo de fruta, polpa de fruta ou outros ingredientes de origem natural (Ashurst, 2005).

A inovação e desenvolvimento de novos produtos é uma área de constante actividade para o sector da indústria de bebidas. Constitui ainda um notável esforço de diversificação da oferta, de inovação e de desenvolvimento de novos produtos que tem em atenção os diferentes estilos de vida das pessoas e das famílias, assim como as emergentes necessidades dos consumidores. Os refrigerantes são assim, apresentados numa crescente variedade de formulações, sabores e embalagens (Shacman, 2005a, ASNRIF, 2010).

O desenvolvimento de um novo conceito deve envolver uma prévia identificação de necessidades do consumidor ou tendências de mercado, de modo a orientar ideias quanto ao produto a desenvolver. Idealmente o produto deve possuir características únicas que o destaquem dos restantes produtos e que sejam atractivas para o consumidor (Ashurst e Hargitt, 2009).

Por desenvolvimento de produtos, pode-se entender uma modificação ou uma extensão de gama de produtos existentes, sendo que a maioria dos desenvolvimentos são deste tipo. Já conceitos completamente inovadores são relativamente raros. Entre os principais tipos de inovação encontram -se a inovação "*breakthrough*" (inovadora/revolucionária); a inovação por melhoramento/ incremento; a inovação por reposicionamento e por extensão de linha (Meziane, 2007; Ashurst e Hargitt, 2009).

Nas últimas décadas, os consumidores têm estado cada vez mais interessados em produtos que contribuam directamente para a sua saúde. O consumidor deseja "viver saudavelmente e morrer saudavelmente". Actualmente, o conceito-chave é o "bem-estar" e as palavras de condução da indústria mundial de refrigerantes são a "saúde", a "naturalidade" e a "energia". De acordo com a *Innova Market Insights*, 60% dos refrigerantes lançados e registados em 2010 e em todo o globo, tiveram um posicionamento de saúde (Shacman, 2005a; Soft Drinks International, 2011).

A indústria de refrigerantes tem assim tentado ir ao encontro das necessidades dos consumidores, sendo que uma das primeiras e grandes tendências da indústria de refrigerantes, tendo como objectivo a “saúde” foi e é a criação das formulações de “baixas calorias”, “dieta” ou “light”. Outra área de desenvolvimento, talvez não tão óbvia, é a procura de novos sabores e de ingredientes não tão usuais. Existe agora um grande interesse no uso de extractos botânicos como o guaraná e o ginseng, dado os seus benefícios em termos de sabor, saúde e por serem percebidos pelo consumidor como produtos naturais. A terceira área de maior desenvolvimento é a de bebidas funcionais (Shacman, 2005c).

O termo “alimento funcional” foi usado pela primeira vez no Japão, na década de 1980, em produtos alimentícios enriquecidos com componentes de vantajosos efeitos fisiológicos. Os alimentos funcionais podem assim, melhorar as condições gerais do organismo (por exemplo, pre- e probióticos) e/ou diminuir o risco de algumas doenças (por exemplo, produtos para baixar o colesterol) (Siró *et al.*, 2008).

Na indústria de refrigerantes, o termo “funcional” é utilizado na forma mais ampla possível, incluindo benefícios como, a melhoria do desempenho desportivo, o aumento da agilidade mental e uma melhor pele. Estes benefícios não seriam normalmente considerados benefícios para a saúde no sentido mais estrito (Shacman, 2005c).

Os refrigerantes funcionais podem ser divididos em quatro sectores principais: bebidas enriquecidas, tais como sumos e águas com adição de vitaminas e minerais; bebidas desportivas; bebidas energéticas e, finalmente, as bebidas nutracêuticas, que são produtos com ingredientes que proporcionam benefícios específicos em termos médicos ou de saúde (Shacman, 2005c).

Existem numerosas bebidas funcionais no mercado, e uma das categorias mais proeminente é a de bebidas desportivas. As bebidas desportivas tradicionais possuem entre 4 – 8% de glúcidos e 2 – 60 mg de sódio por 100 mL. Contudo, actualmente as bebidas desportivas, estão a tornar-se cada vez mais funcionais, sendo enriquecidas com aminoácidos, proteínas, minerais e extractos botânicos (Williams, 2010).

As bebidas desportivas são formuladas para fornecer benefícios, nomeadamente maior hidratação, uma rápida absorção e um melhor desempenho atlético. Contudo, benefícios como a atenuação da fadiga e das dores musculares são procurados pelos atletas e desportistas recreativos. Alguns estudos têm indicado que os atletas apresentam menos dor muscular quando consomem bebidas desportivas que contêm proteínas do soro de leite (PSL) e glúcidos em comparação com bebidas com apenas glúcidos (LaClair e Etzel, 2009).

Actualmente, a maioria das bebidas desportivas não contêm proteína, proporcionando uma oportunidade para que as bebidas desportivas contendo PSL entrem neste segmento de mercado. Tem ocorrido um rápido crescimento do uso de PSL em bebidas, principalmente em bebidas

desportivas. Em Portugal, o sector de bebidas desportivas é ainda pouco explorado e não existem bebidas prontas – a – beber enriquecidas com PSL. (Beecher *et al.*, 2008; LaClair e Etzel, 2009).

As PSL conferem uma vasta gama de benefícios em termos de saúde, uma vez que são ricas em aminoácidos de cadeia ramificada [20 – 30 g/100 g proteína (AACR)] que aumentam a saciedade, protegem contra a perda muscular de proteínas, estimulam a síntese muscular de proteínas e melhoram o controlo da glicemia. Assim, os benefícios nutricionais das PSL apelam a um gama de consumidores que vão desde atletas a pessoas preocupadas em possuir um peso saudável (LaClair e Etzel, 2009).

As bebidas com proteínas de soro de leite (PSL) podem ser de dois tipos consoante o valor de pH. As bebidas de pH neutro ($\text{pH} \approx 6,8$) são opacas e estão disponíveis em sabores como chocolate, laranja e baunilha. As bebidas de pH ácido ($\text{pH} < 3,5$) são relativamente límpidas e estão disponíveis em sabores como uva, limão-lima e tutti-fruti (Beecher *et al.*, 2008). As bebidas ácidas PSL apresentam vantagens em relação as bebidas PSL de pH neutro que vão desde à ausência de turvação à redução dos cuidados em termos de processamento térmico e maior tempo de prateleira (LaClair e Etzel, 2009).

Um dos desafios de incorporar PSL em bebidas desportivas é que o tratamento térmico utilizado para aumentar o tempo de prateleira causa desnaturação e agregação das proteínas a valores de pH próximos do ponto isoeléctrico (pI), que é cerca de 4,6. O resultado é uma turvação e a formação de um precipitado branco. Contudo, a valores de pH abaixo do pI, as bebidas permanecem límpidas (LaClair e Etzel, 2010).

O objectivo deste trabalho de dissertação é compreender os desejos dos consumidores e as consequentes tendências de mercado dos refrigerantes, de forma a desenvolver um refrigerante que se adequa às tendências futuras do mercado. Como as bebidas desportivas são um segmento pouco explorado em Portugal, e a perda de peso e a prática de exercício são temas cada vez mais presentes na população portuguesa, o intuito deste trabalho é desenvolver uma bebida enriquecida com PSL. É de denotar que em Portugal não existem refrigerantes enriquecidos/fortificados com proteínas, pelo que esta bebida será completamente inovadora no mercado de bebidas portugueses.

A bebida desenvolvida terá teores de proteína de 2%, ou seja, 10 g proteína/dose (500 mL). Tentar – se – á ainda desenvolver uma bebida com 5% de proteína (25 g proteína/por dose) e um suplemento efervescente que permite ao consumidor obter uma bebida com 5% proteína a partir da bebida de 2% proteína.

A aceitabilidade do consumidor é um pré-requisito para a entrada de um novo produto num mercado existente. E como os consumidores identificam as bebidas límpidas como mais saciantes em termos de sede e as opacas menos, o objectivo é desenvolver uma bebida de valor de pH inferior a 3,5, de modo a manter a bebida sem grande turvação mesmo após o tratamento térmico (LaClair e Etzel, 2010).

Existe ainda uma preocupação relacionada com o sabor devido ao alto nível de adstringência nas bebidas que contêm elevadas concentrações de PSL (> 3%) e baixo pH. (Beecher *et al.*, 2008). Assim, um dos objectivos deste trabalho centra-se na diminuição da percepção da adstringência na bebida formulada, de modo a não limitar a aceitação por parte do consumidor.

O sabor é um importante factor que afecta a aceitação do consumidor e tal como a adstringência, a acidez e o sabor à papelão são características das bebidas com PSL que poderão comprometer a aceitabilidade da bebida (Andrewes *et al.*, 2011). Logo, estas características sensoriais devem ser tidas em conta aquando da formulação.

A procura das principais tendências foi assim, o primeiro passo, seguindo-se a pesquisa dos ingredientes a utilizar na nova formulação de refrigerante. Após a formulação serão então elaboradas as análises físico-químicas e sensoriais do produto. A análise sensorial será efectuada de modo a analisar a aceitação das características do novo refrigerante.

2. Contributos do Trabalho

A elaboração deste trabalho começou por uma pesquisa e análise das principais tendências de mercado, pelo que é fornecida uma revisão das principais tendências mercadológicas, assim como do panorama geral da indústria de refrigerantes que pode ser utilizada como base para o desenvolvimento de outras bebidas.

A compreensão do produto a desenvolver é de extrema importância. Os refrigerantes são produtos, que aparentemente são de fácil elaboração, mas que podem apresentar diversas particularidades que é preciso ter em conta. Como tal, foi efectuada um levantamento dos principais ingredientes, processo de fabrico e análises físico – químicas aplicados na indústria de refrigerantes. Assim, esta dissertação apresenta-se como uma referência bibliográfica para indivíduos que pretendam ter um conhecimento geral da produção de bebidas refrigerantes.

As bebidas desportivas são um segmento pouco explorado em Portugal e além disso, a aplicação das PSL em bebidas é praticamente inexistente. Um levantamento das principais características das bebidas desportivas e do mercado destas bebidas é efectuada com o intuito de perceber que tipo de bebida desportiva se poderá adequar às tendências futuras. Uma maior compreensão deste segmento de mercado pouco explorado em Portugal e uma elucidação das propriedades e características deste tipo de bebida funcional é fornecido neste documento.

As PSL como ingrediente funcional com numerosos benefícios para a saúde e desempenho físico, mostram-se como um oportunidade de tornar as bebidas desportivas mais funcionais e de acordo com as tendências de “saúde” e “bem-estar” do mercado de bebidas não-alcoólicas. Contudo, a formulação de bebidas com PSL apresenta algumas particularidades e cuidados a ter se o objectivo

é uma bebida aceitável para o consumidor. Esta dissertação fornece informação sobre os principais benefícios das PSL, focando – se mais na nutrição desportiva e também sobre os principais cuidados e problemas de formulação deste tipo de bebidas.

A conveniência é outra das tendências do mercado de bebidas. Uma das melhores respostas a esta tendência é a criação de pequenos pacotes ou pastilhas que o consumidor pode adicionar a bebidas ou água de modo a obter uma bebida instantânea. Neste trabalho também se tentou desenvolver um suplemento que se pudesse adicionar à bebida de 2% PSL, de modo a obter uma bebida de 5% PSL. Um levantamento de informação sobre este tipo de produto foi efectuado, não só com o intuito de desenvolver o suplemento em questão, mas também de fornecer informação para que suplementos com compostos de interesse para os desportistas (por exemplo, glutamina e sulfato de condroitina) pudessem ser desenvolvidos posteriormente.

O principal contributo deste trabalho foi o desenvolvimento de uma bebida desportiva com 2% PSL em quatro aromas diferentes (limão, laranja, tangerina e ananás – coco). Acresce também, a tentativa de desenvolvimento de uma bebida de maior teor proteico (5% PSL) assim como de um suplemento efervescente.

II. A empresa ¹

1. Unicer – Bebidas de Portugal, SGPS, S.A.

A “Unicer” é a maior empresa do sector das bebidas em Portugal e tem a sua actividade principalmente nos negócios das cervejas e das águas engarrafadas. Além disso, encontra – se presente nos segmentos dos refrigerantes, dos vinhos, dos cafés, na produção e comercialização de malte e no negócio do turismo, através da gestão das infra-estruturas turísticas do Parque de Vidago e do Parque de Pedras e da gestão das termas de Melgaço e Envendos.

Com 1500 colaboradores, a “Unicer” está presente de Norte a Sul do país com 10 estabelecimentos que incluem centros de produção de cerveja, de sumos e refrigerantes, e de vinhos; centros de captação e engarrafamento de água; vendas e operações.

1.1. Marcas

A “Unicer” apresenta um variado portefólio de marcas (Figura 2.1) das quais se destacam:

- **Cervejas:** Super Bock, Super Bock Stout, Super Bock Sem Álcool, Super Bock Abadia Gourmet, Super Bock Classic, Cheers, Carlsberg e Cristal.
- **Águas:** Vitalis, Vitalis Sabores, Caramulo, Água das Pedras, Água das Pedras Levíssima, Água das Pedras Sabores, Vidago e Melgaço.
- **Refrigerantes:** “Frutis” Natura, “Frutis”, “Frutea” Ice Tea, Frisumo, “Guaraná Brasil”, Snappy.
- **Vinhos:** Quinta do Minho, Campo da Vinha, Porta Nova, Vinha das Garças, Vinha de Mazouco, Vinha de Mazouco Reserva, Planura, Planura Reserva, Planura Syrah, Monte Sacro, Vini e Vini Sangria.
- **Sidras:** Somersby.

¹ A informação contida no capítulo “Empresa” foi toda retirada do portal da empresa Unicer – Bebidas de Portugal, SGPS, S. A. (<http://www.unicer.pt/noticias/main.php?tipo=1&lng=pt#> - 12/09/2011).



Figura 2.1 - Marcas comercializadas pela Unicer (<http://www.unicer.pt/gca/index.php?id=679>).

1.2. Breve revisão histórica

A “Companhia União Fabril Portuguesa das Fábricas de Cerveja e Bebidas Refrigerantes”, foi constituída por escritura, na cidade do Porto, a 7 de Março de 1980. Mais conhecida como “CUFP”, esta resultou da fusão de sete fábricas de cerveja, seis do Porto (“Fábrica da Piedade”, “Fábrica do Mello, M. Achevk & Cia., J.J. Chentrino & Cia. e M. Schereck”) e a “Fábrica de Ponte da Barca”. A CUFP popularizou-se produzindo cerveja e gasosa de 90 mil dúzias e 4 mil litros de “licores e outras bebidas”.

Em 1964, ocorreu a construção da nova unidade fabril da Via Norte, em Leça do Balio. Hoje em dia, esta é a sede da empresa.

Por fusão da “CUFP”, “Copeja” (“Companhia Portuguesa de Cervejas, SARL”, em Santarém), e “Imperial” (fábrica de cerveja em Loulé) é constituída a “Unicer – União Cervejeira, E. P”. Já na década de 80 (1989), tem início a primeira fase de privatização da “Unicer”, que coincide com a conquista da liderança no mercado cervejeiro (em 1983, a quota de mercado subia de 40% para 44,7% e em 1986 é obtida a liderança em 50,8% do mercado).

A “Unicer – União Cervejeiras, S. A.” fica entregue totalmente ao sector privado a 28 de Junho de 1990, tornando – se a primeira empresa portuguesa a ser privatizada. A 1 de Janeiro de 2001, a “Unicer” passa a designar – se por “Unicer – Bebidas de Portugal, S. A.”, alterando a sua estratégia e estrutura organizacional. Com estas mudanças, a “Unicer” afirma – se como a única empresa a operar nos 5 segmentos do mercado de bebidas em Portugal (Cervejas, Águas, Refrigerantes, Vinhos e Cafés).

Nos primeiros meses de 2002, ocorre a aquisição do “Grupo Vidago, Melgaço e Pedras Salgadas – VMPS” – e a totalidade da “Caféira”.

No segundo semestre do ano de 2006, ocorre uma nova reestruturação da orientação estratégica da empresa para dar resposta aos mercados cada vez mais exigentes. Assim, uma cultura focalizada nos resultados, a simplificação da estrutura organizacional da Empresa, uma importante vertente de responsabilização das equipas e uma focalização nos negócios de cervejas e águas, passam a constituir os novos *guidelines* da Gestão.

1.3. A Unicer no mercado de Sumos e Refrigerantes

O mercado de sumos e refrigerantes é explorado pelo grupo “Unicer” já há bastante tempo. Nos anos 30, a “CUFP” comercializava a “Laranja Invicta” e a “Gasosa Invicta”, nos anos 50, actuava já no segmento das colas e, nos anos 70, lança no mercado dois novos produtos: “Ginger Ale” e a “Água Tónica”.

O “Frisumo”, um refrigerante de sumo de fruta com gás, é lançado em 1971 e viria a tornar-se na marca de refrigerantes com maior volume de vendas e que trouxe algumas medalhas de ouro do concurso *Monde Selection de la Qualité*.

Mas a dinamização do negócio de refrigerantes da Unicer aconteceu a partir de 1977, através da fusão com a fábrica de refrigerantes “Rical”. Assim, nos anos 80, é lançada a marca “Frutini”, uma marca de sumos diluídos, e é reiniciada a produção e comercialização das marcas “Canada Dry”: “Spur Cola”, “Ginger Ale” e “Água Tónica”. Nesta década, a “Unicer” entra ainda num novo segmento, lançando a “Snappy”, a marca de refrigerante de lima-limão.

Em 1995, é lançada a marca “Frutis”, actuando no mercado de sumos diluídos sem gás, e é relançada a marca “Rical”, agora com uma nova imagem.

A entrada da “Unicer” no mercado de liced teas ocorre em 1996, com o lançamento, em parceria com a “Compal”, da marca “Frutea”. Em 1997 verificaram-se mais lançamentos, um deles no segmento dos guaranás, com a marca “Guaraná Brahma”. Em 2001 foi um ano de grande relevância para a “Unicer”, com o lançamento da marca “Frutis Natura”, com a aquisição da totalidade da marca “Frutea Ice Tea” e com o início da comercialização da marca “Guaraná Brasil”. De referir que o lançamento de “Frutis Natura” permitiu à “Unicer” afirmar-se no mercado de sumos e néctares ao apresentar uma gama alargada de sabores composta por néctares, néctares light e sumos 100%.

Em 2011 é lançada uma nova imagem para o “Frisumo” no âmbito da comemoração dos seus 40 anos de existência.

Actualmente a “Unicer” apresenta uma gama simplificada de refrigerantes, mas que permite responder às necessidades dos consumidores, retalhistas e parceiros de negócio, estando o serviço de barril numa posição de excelência.

Consegue, ainda assim, estar presente nos segmentos mais relevantes da categoria e garantir uma presença no TOP 5 dos principais produtores de refrigerantes nacionais.

1.3.1. Marcas de refrigerantes

- **“Frutis”**

A “Frutis” é um refrigerante de fruta sem gás que nasceu em 1995 e que se tornou, muito cedo, um sucesso no portefólio de refrigerantes do Grupo “Unicer”. Trata-se de um refrigerante de fruta que pretende abarcar todas as faixas etárias e classes sociais.

Apresenta-se no mercado em cinco sabores distintos: Laranja; Ananás; Limão; Maçã e Maracujá, e está presente no mercado alimentar e de consumo imediato.

- **“Frutis Natura”**

A “Frutis Natura” é a marca especialista em sumos de fruta, néctares e 100%, que se distingue pela qualidade do produto, imagem de confiança e constantes inovações em termos de sabores e embalagens.

A “Frutis Natura” tem uma gama alargada de sabores:

- Néctares: Pêssego, Pêra e Manga;

- Néctares Light – Manga / Laranja;
- Sumos 100% – Laranja e Maçã.

- **“Guaraná Brasil”**

O “Guaraná Brasil” é uma bebida de origem exótica (fruto de guaraná), muito refrescante e cujo sabor transmite ao seu consumidor as sensações de alegria e cor que estão associadas ao imaginário brasileiro.

É uma bebida agradável, saborosa e alternativa, com um grande poder refrescante. Apesar do seu consumidor preferencial ser jovem, trata-se de um produto que visa atingir todas as faixas etárias.

- **“Snappy”**

A marca “Snappy” era constituída apenas por um refrigerante, lançado em 1985, para concorrer no segmento dos lima-limão. Todavia, após ter sofrido alguns *restylings* e ter alcançado a posição de segunda marca do mercado, é em 2003, ano em que comemora 18 anos de existência, que a “Snappy” se transforma numa gama de produtos abarcando, agora, também os sabores cola, ginger ale e água tônica. .

A “Snappy” tem um público-alvo alargado 18-45 anos, considerando a sua actuação nos 4 segmentos. Os produtos “Lima-limão” e “Cola” são apreciados por consumidores de todas as idades, mas dada a sua frescura e irreverência, relacionam-se mais com os jovens. Já “Ginger Ale” e “Água Tônica” posicionam-se como produtos consumidos por um público-alvo mais adulto, que tem poder de compra e que procura bebidas alternativas.

A “Snappy” afirma-se pela sua acção de liberdade, frescura, modernidade e internacionalidade, oferecendo bebidas de sabor activo e refrescante, para além de mixers de indiscutível qualidade e confiança.

- **“Frutea Ice Tea”**

A “Frutea Ice Tea” nasce da combinação das melhores folhas de chá com verdadeiro sumo de fruta e obedecendo aos mais elevados padrões de qualidade. Existe em três sabores distintos: limão; pêssego e manga/maracujá.

Embora os hábitos de consumo de iced teas sejam cada vez mais abrangentes, “Frutea Ice Tea” é preferido maioritariamente por consumidores jovens adultos dos 18 aos 35 anos.

▪ **“Frisumo”**

O “Frisumo” é um refrigerante de sumo de fruta com gás, de alta qualidade e tradição, que se encontra no mercado desde 1971 e que pretende acompanhar o dinamismo do segmento de refrigerantes com gás.

Tem por missão ser uma marca credível, no mercado de refrigerantes com gás, de qualidade e confiança, que vá ao encontro das preferências do seu público-alvo.

A principal marca de refrigerantes da “Unicer”, tem uma imagem moderna e jovem, transmitindo frescura e um dinamismo constante. A marca assume-se com uma atitude muito própria e uma personalidade forte, apostando numa relação próxima do consumidor jovem-adulto.

Com uma representação distinta, “Frisumo” apresenta uma imagem, com um fundo dinâmico, identificado como um refrigerante com gelo em movimento e ilustrando o fruto com um aspecto apetitoso e sumarento. A imagem apresenta uma marca actual, urbana e alegre, tão ao gosto do seu público alvo: jovens de 18 a 25 anos, modernos, sociáveis e com uma atitude descontraída e positiva perante a vida. Existe no mercado em dois sabores: laranja e ananás.

✓ **Prémios Obtidos**

A qualidade inerente ao produto foi reconhecida, pela primeira vez, em 1979 com a entrega em Paris do *Prémio Internacional de Qualidade*. A mesma distinção foi atribuída nos anos seguintes, nomeadamente em 1980 (Viena), 1981 (Amesterdão), 1988 (Atenas), 1989 (Londres) e 1990 (Luxemburgo).

O “Frisumo” foi, ainda, galardoado por inúmeras vezes pelos Prémios *Monde Selection*, nomeadamente:

- **“Frisumo Laranja”**

- a. 13 Medalhas de Ouro: 1978, 1979, 1980, 1981, 1983, 1984, 1987, 1988, 1989, 1990, 1991, 1994 e 1996.
- b. Grandes Medalhas de Ouro: 1993 e 1995.
- c. Troféus de Alta Qualidade Internacional: 1980, 1991 e 1995.
- d. Medalhas de Prata: 1977, 1982 e 1985.

- **“Frisumo Ananás”**

- .1. 9 Medalhas de Ouro: 1977, 1978, 1980, 1983, 1984, 1989, 1991, 1993 e 1994.
- .2. Troféu de Alta Qualidade Internacional: 1980.
- .3. 4 Medalhas de Prata: 1979, 1982, 1988 e 1990.

III. Estado da Arte

1. Refrigerantes

Um refrigerante ou uma bebida refrigerante consiste num líquido constituído por água, que contém em solução, emulsão ou suspensão ingredientes como sumo, xaropes, extractos e outros. Eventualmente pode ser aromatizado, adoçado, acidulado e ou gaseificado com dióxido de carbono e pode ainda conter fruta, sumo de fruta e/ou sais minerais e vitaminas. Quanto aos aromas empregues, estes podem ter origem em sumos de frutos, em extractos vegetais ou substâncias aromáticas (Portaria n.º703/96 de 6 de Dezembro, ASNIRSF, 2004).

Na legislação portuguesa, as bebidas refrigerantes estão legalmente enquadradas pelo Decreto-lei nº288/94, de 14 de Novembro, que foi posteriormente regulamentado pela Portaria nº703/96, de 6 de Dezembro, respeitante às respectivas denominações, definições, acondicionamento e rotulagem.

Os refrigerantes podem ser divididos em sete categorias principais: o refrigerante de sumo de frutos; o refrigerante de polme; o refrigerante de extractos vegetais; o refrigerante aromatizado; a água tônica; o refrigerante de soda e o refrigerante adicionado de bebida alcoólica (Tabela 3.1.).

Os sumos e néctares são bebidas preparadas a partir de sumos de fruta naturais, em que o conteúdo em sumo de fruta é regulamentado, em Portugal, pelo Decreto Lei nº225/2003, de 24 de Setembro. O sumo de frutos é definido como um produto fermentescível, mas não fermentado, obtido a partir de uma ou mais espécies de frutos são e maduros, frescos ou conservados pelo frio. Possui a cor, aroma e o gosto característico dos sumos de frutos de que provém, e em alguns casos a polpa e as células separadas após a extracção. Quanto a esta categoria pode-se distinguir: o sumo de fruta à base de concentrado; o sumo de frutos concentrado e o sumo de frutos desidratado/em pó (ANIRSF, 2004; Decreto Lei nº225/2003).

O sumo de fruta à base de concentrado é um produto obtido por reposição num sumo de frutos concentrado da água extraída do sumo durante a concentração e por restituição das substâncias aromáticas. Já o sumo de frutos concentrado é obtido a partir de sumo de uma ou mais espécies de frutos por eliminação física de uma parte de água, em que se destinado ao consumidor final não poderá representar menos de 50%. O sumo de frutos desidratado/em pó é obtido a partir de uma ou mais espécies de frutos por eliminação física de quase toda a água (ANIRSF, 2004; Decreto Lei nº225/2003).

O néctar de frutos, por sua vez, é um produto fermentescível, mas não fermentado, obtido por adição de água e/ou açúcares ou mel ao sumo de frutos, ao sumo de frutos concentrado, ao sumo de frutos desidratado, a polmes de frutos ou a uma mistura destes produtos. Neste tipo de produtos os

açúcares e/ou mel não representam mais de 20% (m/m), do produto acabado, sendo que os açúcares podem ser total ou parcialmente substituídos por edulcorantes. Quanto aos teores mínimos de sumo e/ou polme, expressos em percentagem volumétrica do produto acabado, são padronizados em:

- 25% para frutos de baixa acidez (mangas, bananas, goiabas, papaias, etc.) suculentos ou altamente aromatizados no seu estado natural;
- 50% para frutos com sumos de bom paladar, no seu estado natural [maçãs, peras, pêssegos, citrinos (excepto lima/limão), ananás, etc.] (ANIRSF, 2004; Decreto Lei nº225/2003).

Tabela 3.1. - Categorias de refrigerantes segundo a legislação vigente e exemplos destas categorias no portefólio de marcas da Unicer (Portaria n.º703/96 de 6 de Dezembro).

Categoria de refrigerante	Definição	Exemplos destes produtos no portefólio de marcas da “Unicer”
Refrigerante de sumo de frutos	<p>Obtido por diluição em água de sumo ou polme de frutos na forma de concentrado ou desidratada. Possui um teor de sumo entre os limites mínimos (m/m):</p> <ul style="list-style-type: none"> - Ananás, morango, limão, toranja e frutos ácidos diversos – 6%; - Laranja – 8%; - Alperce e pêssogo – 12%; - Maçã, pêra e uva – 16%; - Outros frutos e misturas de frutos – 10%. 	<ul style="list-style-type: none"> - <u>Bebida carbonatada</u>: “Frisumo”; - <u>Bebida não carbonatada</u>: “Frutis”.
Refrigerante de polme	Bebida turva resultante da diluição em água de polme ou derivados, num teor mínimo de 2% (m/m) de partes comestíveis dos frutos.	
Refrigerante de extractos vegetais	Bebida resultante da diluição em água de extractos e aromatizantes, podendo eventualmente incluir sumo, polme ou respectivos derivados e ainda outros ingredientes comestíveis de origem vegetal.	<ul style="list-style-type: none"> - <u>Bebida carbonatada</u>: Toda a gama “Snappy” e “Guaraná Brasil”; - <u>Bebida não carbonatada</u>: “Frutea Iced Tea”
Refrigerante aromatizado	Obtido por diluição de aromatizantes em água, mas no caso de não conter açúcares nem edulcorantes designar-se-á por “água aromatizada”.	<ul style="list-style-type: none"> - <u>Bebida carbonatada</u>: “Rical gasosa” e a gama de “Água das Pedras Sabores”; - <u>Bebida não carbonatada</u>: Gama de águas “Vitalis sabores”.
Água tónica	Bebida límpida, incolor e gaseificada que possui um teor de quinino entre 45 - 85 mg/L, expresso em hidrocloreto de quinino.	- <u>Bebida carbonatada</u> : “Snappy Água Tónica”.
Refrigerante de soda	Bebida límpida, incolor e gaseificada contendo bicarbonato de sódio num teor mínimo de 0,3 g/L e dióxido de carbono num teor mínimo de 6 g/L.	
Refrigerante adicionado de bebida alcoólica	Obtido por adição de uma bebida alcoólica a refrigerantes de extractos vegetais ou aromatizados, com um teor máximo de etanol de 1% (v/v).	

1.1. Ingredientes dos refrigerantes

Um refrigerante, para além de ser composto por ingredientes como sumos de fruta e aromas, possui compostos de valor tecnológico e nutricional projectados para melhorar a aparência e a estabilidade do produto de forma a assegurar que as propriedades organolépticas são mantidas durante um tempo de prateleira razoável.

Entre os principais ingredientes dos refrigerantes encontram-se aqueles que são autorizados e previstos na Portaria nº 703/96 de 6 de Dezembro (Tabela 3.2.). Para além desses ingredientes, existem os aromas, os corantes e os edulcorantes e outros aditivos que não os corantes e edulcorantes que são admissíveis na indústria de refrigerantes e que os respectivos teores estão fixados em legislação específica:

- Aromas: Portarias 620/90, de 03/08 e 264/944, de 30/04;
- Corantes: Decreto-lei 193/2000, de 18 de Agosto;
- Edulcorantes: Decreto-lei 394/98, de 10/12, que revoga a Portaria 420/95, de 04/05 e Decreto-lei 98/2000, de 25 Maio;
- Aditivos, que não os corantes e edulcorantes: Decreto-lei 121/98, de 08/05, com alterações ao Decreto-lei 363/98, de 19 de Novembro e Decreto-lei 274/2000, de 9 de Novembro.

1.1.1 Água

A água é o componente maioritário num refrigerante, representando geralmente entre 85 – 95% do produto final. Esta actua como receptáculo dos outros ingredientes, pelo que a qualidade da água deve estar conforme requisitos rígidos, de modo a não interferir com o sabor, aparência, carbonatação ou outras propriedades da bebida (Taylor, 2005). Assim, a água utilizada na indústria de refrigerantes deve ser livre de níveis elevados de sais e elementos minerais; sabores e odores e matéria orgânica e deve ainda ser límpida e sem cor; livre de oxigénio dissolvido e estéril (livre de microrganismos) (Taylor, 2006).

Entre as principais impurezas que podem estar presentes na água e que podem ter efeitos directos na qualidade e estabilidade das bebidas tem-se, as partículas suspensas (complexos de hidróxidos inorgânicos e silicatos, ou às vezes, detritos orgânicos). Estas podem funcionar como centros de instabilidade levando à perda de carbonatação, espuma e volumes variáveis durante o enchimento. Em bebidas não-carbonatadas pode ocorrer depósitos visíveis e às vezes um “neck-ring” no produto acabado. Outras impurezas que causam problemas são os bicarbonatos, carbonatos e hidróxidos de metais alcalino-terrosos e alcalinos (principalmente de cálcio, magnésio, sódio e potássio). Estas impurezas são responsáveis pela elevada alcalinidade da água e provocam um

fenómeno de tamponação da acidez, que acarreta alterações em termos de sabor. Assim, tanto a filtração como o controlo da alcalinidade (valor ideal de $[CaCO_3] < 50 \text{ mg/L}$) da água são processos essenciais na indústria de refrigerantes (Taylor, 2005).

Periodicamente devem ser retiradas amostras de água de diversos pontos da rede, para proceder a análises completas. Estas análises servem para detectar alterações na qualidade da fonte abastecedora e/ou desvios na operação do tratamento instalado. A água usada para produção de refrigerantes deve obedecer aos parâmetros indicados na Tabela 3.3.

A nível microbiológico devem ser realizadas análises a coliformes, bactérias, bolores e leveduras.

Tabela 3.2. - Ingredientes utilizados no fabrico de refrigerantes, segundo a Portaria nº703/96 de 6 de Dezembro.

Ingredientes utilizados no fabrico de refrigerantes	
<i>Sumo</i>	Produto líquido, fermentescível mas não fermentado, extraído de frutos ou produtos hortícolas por processos mecânicos.
<i>Sumo concentrado</i>	Produto obtido de sumo por eliminação física de pelo menos 50% da água de constituição.
<i>Sumo desidratado</i>	Produto sólido obtido de sumo por eliminação física da quase totalidade da água de constituição.
<i>Polme</i>	Produto pastoso, fermentescível mas não fermentado, obtido directamente da parte comestível de frutos ou de produtos hortícolas, inteiros ou descascados, por trituração, peneiração e homogeneização, sem eliminação do sumo.
<i>Polme concentrado</i>	Produto pastoso obtido do polme por eliminação física de uma parte da água de constituição.
<i>Polme desidratado</i>	Produto sólido obtido do polme por eliminação física da quase totalidade da água de constituição.
<i>Néctar</i>	Produto fermentescível, mas não fermentado, resultante da adição de água e de açúcares ou mel a sumo, sumo concentrado, polme, polme concentrado ou a uma mistura de quaisquer destes produtos.
<i>Xarope de sumo</i>	Produto pastoso obtido de solução aquosa de açúcares com concentração adequada adicionada de sumo, sumo concentrado, polme, polme concentrado, néctar ou uma mistura de quaisquer destes produtos.
<i>Extracto vegetal</i>	Produto, com efeito aromatizante ou sávido, obtido a partir de matérias vegetais, podendo ser sujeito a processos de concentração.
<i>Água potável</i>	Água que obedeça aos parâmetros legalmente fixados para a água para consumo humano, água mineral natural ou água de nascente.
<i>Açúcares</i>	Os definidos e caracterizados no Decreto – Lei n.º 302/85, de 29 de Julho.
<i>Mel</i>	Produto com características estabelecidas pelo Decreto – Lei n.º 131/85, de 29 de Abril.

Tabela 3.3 - Especificações físico - químicas da água para a produção de refrigerantes (Decreto – Lei 306/2007 de 27 Agosto).

Substância	Quantidade Máxima
<i>KMnO₄</i>	≤ 5 mg/L
<i>Nitritos</i>	≤ 0,1 mg/L
<i>Nitratos</i>	≤ 50 mg/L
<i>Chumbo</i>	≤ 50 µg/L
<i>Cálcio</i>	≤ 100 mg/L
<i>Cobre</i>	≤ 100 mg/L
<i>Arsénio</i>	≤ 50 µg/L
<i>Cádmio</i>	≤ 5 µg/L
<i>Zinco</i>	≤ 0,1 µg/L
<i>Ferro</i>	≤ 200 µg/L
<i>Flúor</i>	≤ 1500 µg/L
<i>Sulfatos</i>	≤ 250 µg/L
<i>Fósforo</i>	≤ 5000 µg/L
<i>Cloretos</i>	≤ 25 mg/L
<i>Manganês</i>	≤ 50 µg/L
<i>Sólidos Totais</i>	≤ 1500 mg/L
Outros Requisitos	
<i>Valor de pH</i>	6,5 – 8,5
<i>Dureza</i>	< 500 mg de CaCO ₃ /L
<i>Cor</i>	< 20 mg/L
<i>Turvação</i>	< 10 mg/L
<i>Alcalinidade</i>	< 130 mg/L

1.1.2 Açúcares e Edulcorantes

Os açúcares são utilizados em percentagens de 7-12% (m/v), quando são a única fonte de doçura na formulação de um refrigerante. Estes fornecem propriedades bastante distintas como doçura, estabilidade, equilíbrio em termos de sabor, e até cor em algumas bebidas (O' Donnel, 2005).

Um grande número de açúcares (Tabela 3.4.) é utilizado na indústria de refrigerantes. Globalmente, a sacarose é o açúcar mais utilizado, apresentando características como ser muito solúvel em água, incrementar os aromas da bebida e ser estável na presença de muitos agentes químicos. Esta é um dissacarídeo, que se encontra disponível na forma cristalina ou na forma líquida (xarope de sacarose) (O' Donnel, 2005; Lidon e Silvestre, 2007).

Na recepção do açúcar é importante proceder-se a um exame visual, tentando verificar ocorrências de avarias, humidade excessiva ou odores estranhos. O açúcar não deve apresentar-se

agregado ou molhado, e deve estar isento de materiais estranhos. As embalagens danificadas devem ser separadas e analisadas, para eventual consumo imediato. Os cristais devem ser grandes e brilhantes, da cor mais clara possível. De modo a se assegurar as boas condições de armazenamento do açúcar, torna-se importante a observação dos seguintes critérios:

- O depósito deve ser claro, limpo e arejado, distante de ambientes com cheiro activo. Deve também estar protegido contra roedores e insectos;
- As pilhas devem ser organizadas com corredores de ventilação, sobre estrados;
- Os vários lotes devem ser identificados quanto à procedência, quantidade e data de entrada, de modo a permitir a rotação segura e permanente dos produtos armazenados.

Tabela 3.4 - Propriedades dos açúcares (Adaptada de O' Donnel, 2005).

Açúcar	Doçura relativa	Solubilidade (g/100 g água a 20°C)	Calorias (kcal/g)
Sacarose	1	200	4
Isoglucose	0,6	Elevada	4
Xarope de glucose / frutose	0,9 – 1,0	Elevada	4
Frutose	1,2 – 1,8	374,83	4

Nos últimos 10-15 anos, a indústria de refrigerantes tem sofrido algumas alterações significativas no que diz respeito às fontes de doçura. O melhoramento da qualidade em termos de sabor dos edulcorantes e o aumento do número de edulcorantes disponíveis para a indústria de refrigerantes, aliados ao aumento da preocupação do consumidor com os hábitos alimentares e o aumento da incidência da obesidade e do diabetes tipo 2 no mundo ocidental, levou a um crescente aumento do número de formulações com baixo ou reduzido teor em açúcar (tendência “Light”). Verificou-se assim um aumento drástico da utilização de edulcorantes no período de 1985 - 2004 (O' Donnell, 2006).

A sacarina foi o primeiro edulcorante a ser comercializado (durante a 1ª Guerra Mundial), seguindo - se o ciclamato, que entrou no mercado durante a década de 60, mas devido à controvérsias quanto à possibilidade de ser carcinogénico foi banido de vários países. Nos inícios da década de 80, ocorreu a introdução do aspártamo (à base de fenilalanina) e do acesulfame K (em menor extensão), no mercado global de refrigerantes, verificando-se uma grande melhoria da qualidade em termos de sabor das formulações “sem açúcar” e um crescimento intenso no sector de bebidas de “baixas – calorias” (O' Donnell, 2006).

Hoje em dia, os formuladores têm à disposição uma vasta gama de edulcorantes, que podem também estar combinados entre si. Na Tabela 3.5. são indicados alguns dos edulcorantes mais utilizados na indústria de refrigerantes e alguns menos importantes em termos comerciais.

Mais recentemente, tem surgido interesse no uso de adoçantes de origem natural devido a preocupações de saúde relacionadas com o uso de sacarose, tais como a cárie dentária, a obesidade e a diabetes. Um desses adoçantes que tem sido alvo de muita atenção é o esteviosídeo, vulgarmente denominado por “stevia” por ser um glicosídeo doce extraído da planta *Stevia rebaudiana Bertoni*. Contudo, este ainda não foi aprovado pela Comissão Europeia devido a preocupações de segurança (Chatsudthipong e Muanprasat, 2009).

Existe ainda, um crescente desenvolvimento e uso de glícidos, que possuem atributos fisiológicos específicos, como substitutos parciais dos açúcares. Os açúcares como a inulina, a polidextrose, os fruto – oligossacarídeos e as oligofrutoses apresentam efeitos bastante benéficos para a saúde digestiva, como comportarem-se como fibras alimentares e terem efeitos pré – bióticos. Outros açúcares apresentam baixo índice glicémico, tal como a trealulose, a tagatose e a isomaltulose (O’ Donnel, 2005).

Tabela 3.5 - Propriedades físicas - químicas e regulamentares dos edulcorantes (Adaptada de O’ Donnel, 2006 e Regulamento 94/35/EC).

Edulcorante	Número-E (UE)	Doçura relativa	Solubilidade (g/L)	Calorias (kcal/g)	Doses máximas de utilização
<i>Acelsulfame K</i>	950	200	270	0	350 mg/L
<i>Aspartámo</i>	951	200	10	4	600 mg/L
<i>Ciclamato</i>	952	35	200	0	
<i>Sacarina</i>	954	400	3,700	0	80 mg/L
<i>Stevia (Esteviosídeo)</i>	Não aprovado	300	1,2	0	N/A
<i>Sucralose</i>	955	450	280	0	300 mg/L
<i>Alitame</i>	Não aprovado	2000	131	1,4	N/A
<i>Neotame</i>	Não aprovado	8000	12,6	0	N/A
<i>Sal de aspártamo e acessulfame</i>	951,950	350	23	2,56	350 mg/L

1.1.3 Acidulantes

O uso de acidulantes é essencial para a formulação de um refrigerante. Os acidulantes apresentam como propriedade primária saciar a sede ao estimularem o fluxo de saliva na boca. A finalidade da utilização destes ácidos é a de neutralizar a doçura do açúcar e realçar o sabor do refrigerante. Além disso, como reduzem o pH, podem agir como conservantes moderados. Actuam sinergicamente com antioxidantes como o butil-hidroxianisol (BHA), o butil-hidroxitolueno (BHT) e o ácido ascórbico e evitam indirectamente a alteração da cor e a oxidação lipídica das bebidas (O’ Donnel, 2005).

O ácido cítrico será dos acidulantes mais vulgarmente utilizado na indústria de refrigerantes. Este é obtido a partir de processos fermentativos dos glúcidos e apresenta uma aparência semelhante ao açúcar. São cristais brancos, inodoros e de sabor fortemente ácido. Por se tratar de um produto bastante higroscópico, o ácido cítrico deve ser armazenado em local seco e bem ventilado, em temperatura amena. O ácido cítrico é diluído antes da sua adição ao xarope.

O uso dos acidulantes é regulamentado pelo Decreto-lei 121/98, de 8 de Maio e encontram-se listados na Tabela 3.6 alguns dos acidulantes mais utilizados. Porém, é ainda de referir o efeito adicional do gás dióxido de carbono dissolvido na bebida.

Tabela 3.6 - Acidulantes utilizados nos refrigerantes (Adaptada de O' Donnel, 2006).

Acidulante	Teores máximos (p/v)	Principais características
Ácido ascórbico (E330)	-	Ação adicional como estabilizante e antioxidante, que aumenta a estabilidade aromática e o tempo – de – prateleira.
Ácido cítrico (E330)	0,5%	Empregue geralmente em bebidas de fruta aromatizadas e mais vulgarmente na forma monohidratada.
Ácido fumárico	-	Usado em bebidas em pó de fruta, chá e de extractos vegetais.
Ácido láctico (E270)	0,1%	Mais empregue como modificador e intensificador de aromas.
Ácido málico (E296)	0,3%	Bastante utilizado em bebidas com baixas calorias, dado mascarar o sabor residual dos edulcorantes.
Ácido fosfórico (E338)	0,02%	A sua adstringência complementa o carácter seco das bebidas carbonatadas de cola, sendo mais usado neste tipo de bebidas.
Ácido tartárico (E334)	0,5%	Apresenta um sabor forte e azedo que complementa os aromas de fruta natural e sintética de uva e arando.

1.1.4. Aromas

Um aroma consiste numa mistura cuidadosamente equilibrada de substâncias aromáticas, de modo a transmitir a mensagem certa aos receptores sensoriais do consumidor. Este equilíbrio é de extrema importância, uma vez que o “flavour” (aroma/sabor) oferecido por uma bebida representa não apenas a identidade, mas também o carácter único da bebida (O'Donnel, 2005).

Os aromas para refrigerantes são de dois tipos principais: aromas miscíveis em água e aromas dispersáveis em água. Em que os aromas miscíveis em água são formulados para dissolver facilmente em água, formando uma solução clara e brilhante em doses normalmente na gama de 0,1%. Estes geralmente contêm principalmente compostos oxigenados que são altamente polares (O'Donnel, 2005).

Quanto aos aromas dispersáveis em água, estes são considerados "insolúveis" possuindo na sua composição uma fase de óleo relativamente não - polar, geralmente de origem cítrica. Este tipo

de aroma é introduzido sob a forma de emulsão, permitindo às substâncias aromáticas à base de óleo serem incorporadas sob uma forma solúvel. A fase de componentes do óleo inclui a base de óleo (geralmente cítrica como a laranja e limão ou óleos de terpenos da mesma fonte), que é dissolvida num agente de estabilização adequado (fase aquosa). A fase aquosa é, complementar à fase de óleo, e os seus componentes hidrocoloidais tendem a fornecer uma zona tampão de protecção ao redor de cada gota de óleo. Dos muitos polímeros solúveis em água que podem agir como agentes emulsionantes, o mais frequentemente utilizado é a goma de acácia (também conhecido como goma arábica) e os amidos modificados (O' Donnel, 2005).

1.1.5. Corantes

Os corantes são úteis em diversas situações. Uma delas é quando um refrigerante à base de sumo de fruta necessita de restaurar a sua aparência devido à destruição dos corantes naturais pelo processamento térmico, ou ainda intensificar a cor quando a contribuição do sumo é mais fraca. O ajuste da cor também pode ser necessário para garantir a uniformidade do produto de modo a compensar as variações naturais de tom e intensidade de cor (O' Donnel, 2005).

A cor é um parâmetro importante na avaliação da qualidade para o consumidor e formulador, servindo, no momento da produção, como parâmetro de padronização do produto. A deterioração da cor pode ainda fornecer informações úteis sobre as alterações de qualidade que ocorrem, por exemplo, durante o armazenamento devido a variações de temperatura ou contaminação microbiológica (O' Donnel, 2005).

Os corantes podem ser divididos em duas categorias: Naturais e Artificiais. Os corantes naturais como as antiocianinas (E163), paprika (E160c), luteína (E161), beta – caroteno (E160a), entre outros são extractos botânicos, à excepção do carmim (corante vermelho – E120) que é obtido a partir do insecto *Dactilopius coccus*. Alguns dos corantes artificiais utilizados na indústria de refrigerantes são o amarelo de tartrazina (E102), ponceau 4R (E124), amarelo crepúsculo (E110), carmosina (E122), amarelo de quinolina (E104), entre outros (O' Donnel, 2006).

Tanto os corantes naturais como os corantes artificiais (sintéticos) são empregues dentro de limites restritos indicados na legislação. Em Portugal, esses limites são indicados no Decreto-lei 193/2000, de 18 de Agosto.

1.1.6. Conservantes

Um conservante pode ser definido como qualquer substância capaz de inibir, retardar ou impedir o crescimento de microrganismos ou qualquer deterioração de alimentos por microrganismos ou capaz de mascarar a evidência de tais alterações (O'Donnel, 2006).

Na União Europeia, os níveis máximos de conservantes permitidos são dadas de acordo com o substrato alimentar em causa. No caso dos refrigerantes, que podem ser consumidos sem diluição, aplica-se a Directiva n.º 95/2/CE Europeia, sendo regulamentados, em Portugal, pelo Decreto-lei 193/2000, de 18 de Agosto (Tabela 3.7.). Os p-hidroxibenzoatos citados na legislação anteriormente referida não são mais permitidos para uso em bebidas não alcoólicas, embora ainda sejam empregues em determinados alimentos (O'Donnel, 2006).

O dióxido de carbono, embora não seja adicionado especificamente como um conservante, contribui para a inibição do crescimento de microrganismos e, juntamente com outros factores (por exemplo, pH), contribui para uma maior estabilidade da bebida e por esta razão a incidência de deterioração em bebidas carbonatadas é menor do que nas bebidas lisas (O'Donnel, 2006).

Os conservantes mais empregues na indústria de refrigerantes serão provavelmente, o benzoato de sódio e o sorbato de potássio. O benzoato de sódio é um conservante que possui um pKa de 4,2, sendo eficiente em ambientes ácidos, como o dos refrigerantes (acção máxima a valores de pH=3).

O benzoato de sódio é um pó branco, granuloso, inodoro ou de leve odor balsâmico e de sabor levemente adocicado, que deve ser armazenado em local seco e bem arejado, sobre estrados afastados das paredes ou tecto, sob temperatura amena. É geralmente diluído antes da sua adição ao xarope composto. Recomenda-se cuidado e uso de protecção no seu manuseamento, pois pode provocar irritações na pele.

O sorbato de potássio é o sal de potássio do ácido sórbico, e a sua utilização em prole do ácido sórbico deve-se à sua maior solubilidade em água. O ácido sórbico apresenta um pKa de 4,75, tendo uma acção máxima até valores de pH=6.

Tabela 3.7 - Conservantes utilizados nos refrigerantes e os respectivos sais e limites indicados no Decreto – Lei 193/2000, de 18 de Agosto (Adaptada de O'Donnel, 2006).

Conservante	Concentração (mg/L)	Forma alternativa usada em nível equivalente
<i>Dióxido de enxofre (E220)</i>	20	<ul style="list-style-type: none"> - Sulfito de sódio - E221 - Sulfito de sódio de hidrogénio - E222 - Metabissulfito de sódio - E223 - Metabissulfito de potássio - E224 - Sulfito de cálcio - E226 - Cálcio sulfito de hidrogénio, bissulfito de cálcio - E227 - Bissulfito de potássio - E228
<i>Ácido benzóico (E210)</i>	150	<ul style="list-style-type: none"> - Benzoato de sódio – E211 - Benzoato de potássio – E212 - Benzoato de cálcio – E213
<i>Ácido sórbico (E200)</i>	300	<ul style="list-style-type: none"> - Sorbato de sódio – E201 - Sorbato de potássio – E202 - Sorbato de cálcio – E203
<i>Combinação de ácido sórbico/ ácido benzóico (E210/E200)</i>	150/250	

1.1.4. Outros ingredientes funcionais

A funcionalidade dos ingredientes já discutidos tende a ser auto-evidente dado o contributo para a identidade principal da bebida. À excepção dos conservantes, todos os ingredientes já indicados são usados principalmente pelo sabor e cor que fornecem à bebida. Todavia, existem outros ingredientes que contribuem para um melhor desempenho e caracterização da bebida e entre eles estão os estabilizantes e os antioxidantes (O'Donnel, 2006).

▪ Estabilizantes

Os estabilizantes são utilizados na indústria de refrigerantes de modo a prevenir a floculação e a coalescência das emulsões. Geralmente são hidrocolóides, que através de mecanismos de viscosidade e interacção electrostática formam filmes finos de revestimento em volta de pequenas gotas de óleo, dispersando-as na fase aquosa e prevenindo a sua aglomeração. Para além da estabilidade, também melhoram as características em termos de sabor, aumentando a viscosidade da bebida (Shacman, 2005a; O' Donnel, 2006).

Na legislação da UE existem mais de 50 ingredientes classificados como estabilizantes para uso alimentar, embora não mais de 10 sejam usados regularmente em formulações de refrigerantes. Estes incluem os: alginatos [alginato de sódio (E401)], carragenatos (E407), gomas guar (E412), goma tragacanto (E413), goma-arábica (E414), goma xantana (E415), pectina (E440) e carboximetilcelulose (E466). Também se inclui nesta categoria de aditivos alimentares, o extracto de quilaia (E999), que é permitido especificamente para uso em bebidas não alcoólicas (O' Donnel, 2006).

▪ Antioxidantes

A oxidação de certos ingredientes será um dos problemas mais comuns que ocorre durante o armazenamento de uma bebida. Tanto os componentes da bebida que lhe fornecem cor como os que lhe dão sabor e aroma podem sofrer degradação na presença de oxigénio dissolvido e contido no *headspace* (espaço vago) das embalagens (O'Donnel, 2006).

O processo oxidativo é frequentemente atribuído à permeabilidade ao oxigénio das embalagens plásticas utilizadas na indústria de refrigerantes, mas é importante que o processo oxidativo não se inicie na fase de produção da bebida (O' Donnel, 2006).

Os antioxidantes são, por isso, ingredientes comuns em formulações que contenham ingredientes mais vulneráveis à oxidação. Por exemplo bebidas cítricas, nomeadamente refrigerantes de limão, são frequentemente susceptíveis à oxidação (O'Donnel, 2006).

Alguns dos antioxidantes mais utilizados são o butil-hidroxi anisol (BHA), o butil-hidroxi tolueno (BHT) e o ácido ascórbico (O'Donnel, 2005).

O ácido ascórbico apresenta-se sob a forma de pó fino, branco e inodoro e de sabor fortemente ácido. Deve ser armazenado à temperatura ambiente.

A solução de ácido ascórbico deve ser usada imediatamente após a sua preparação, e a sua adição ao xarope composto deve ocorrer imediatamente após a sua preparação. Caso fique muito tempo exposto, o ácido ascórbico perde totalmente as suas propriedades anti – oxidantes.

1.2. Análises na indústria de refrigerantes

1.2.1. Brix

À parte da água, os açúcares são o maior componente dos refrigerantes adoçados sem recurso a edulcorantes, podendo representar até cerca de 13% do conteúdo de uma bebida. Estes proporcionam as características de doçura à bebida e é a interação da doçura com os outros ingredientes que determina a aceitabilidade em termos de sabor do refrigerante. Em alguns tipos de bebidas, qualquer desvio ao conteúdo em açúcar pode resultar na perda da aceitabilidade pelo consumidor (Shacman, 2005a).

Na indústria de refrigerantes, o Brix ($^{\circ}\text{B}$) é a medida de conteúdo em açúcar de uma bebida e é definido como a percentagem de açúcar dissolvido (peso/peso) numa solução de água expresso em graus brix ($^{\circ}\text{B}$), o que significa que uma solução de 100 g a 10 $^{\circ}\text{B}$ possui 10 g de açúcares dissolvidos (Shacman, 2005a).

A medição do Brix é o principal processo de controlo *standard*. Este controlo deve ser preciso e frequente ao longo do processo produtivo. Qualquer desvio das especificações alvo deve ser minimizado. Os desvios não têm só impacte negativo na qualidade do produto, como podem significar um grande custo económico para as empresas (Shacman, 2005a).

A maior parte das indústrias de refrigerantes têm como medida de controlo de qualidade *standard* um limite de tolerância de $\pm 0,20^{\circ}\text{B}$ sobre o valor de Brix-alvo, de modo a manter o conteúdo de açúcar e as características organolépticas da bebida sem alterações que possam ser percebidas pelo consumidor (Shacman, 2005a).

Quanto à medição dos graus Brix, a sua determinação é sempre indirecta. O instrumento de medição mais utilizado nas indústrias de refrigerantes é o refractómetro. Consiste numa simples medição da densidade de um líquido, que é mensurado através da avaliação do ângulo de refração da luz ao passar por uma solução. E este ângulo denominado por índice de refração da solução

depende da concentração em açúcar da solução, ou seja, da densidade da solução. Sabe-se também que quanto maior a densidade da solução, maior é o índice de refração da solução que é convertido directamente em graus Brix pelos refractómetros utilizados, hoje em dia. (Shacman, 2005a).

Como os refractómetros medem a densidade da solução, a medição dos graus Brix de uma solução é dependente da temperatura. A medição dos valores de Brix está *standardizada* para uma temperatura de 20°C, pelo que medições efectuadas fora desta temperatura devem ter em conta os factores de correcção para as leituras de Brix de um refractómetro (Tabela disponível em: <http://www.crcnetbase.com/doi/abs/10.1201/9780203492123.ax2>) (Shacman, 2005a).

As leituras do refractómetro podem ser afectadas pela presença de outros sólidos solúveis, que podem estar presentes nos refrigerantes devido à ingredientes como os sumos, xaropes e extractos. Estes pequenos desvios ocorrem porque os refractómetros regulares estão calibrados para a medição de índices de refração de soluções puras de sacarose (Shacman, 2005a; Taylor, 2005).

O conteúdo em acidez na forma de ácidos orgânicos (por exemplo, ácido cítrico) nos concentrados, xaropes e extractos pode influenciar as leituras de Brix do refractómetro, uma vez que os componentes ácidos solúveis refractam a luz diferentemente das soluções de sacarose. Na maioria dos casos este efeito não é muito significativo, contudo, quando existem níveis apreciáveis de ácido cítrico, como no caso de sumos de limão e lima, é necessário aplicar uma correcção de modo a evitar um erro na leitura do Brix. Existem tabelas que indicam os factores de correcção das leituras de Brix medida no refractómetro consoante a percentagem de ácido cítrico da solução (Tabela disponível em: <http://www.crcnetbase.com/doi/abs/10.1201/9780203492123.ax5>) (Shacman, 2005a; Taylor 2005).

Outro factor a ter em questão é fenómeno de inversão do açúcar. Esta é uma reacção química em que ocorre a quebra da ligação glicosídica, em solução, da sacarose, obtendo – se glucose e frutose e, dependendo do grau de inversão, poderá ainda restar alguma concentração de sacarose. A inversão de açúcar é um problema muito sério na indústria de refrigerantes, trazendo problemas na manutenção de padrão do Brix e conseqüentemente do sabor do produto (Shacman, 2005a)

A ligação glicosídica que une a glucose à frutose é extremamente frágil e quebra facilmente em presença do meio levemente ácido. A reacção de inversão acontece, inicialmente no xarope e posteriormente continua a ocorrer no produto final até que entre em equilíbrio. O grau desta inversão ou o máximo a que pode chegar depende também das variáveis de tempo e temperatura, mas para os produtos já engarrafados, as condições para a inversão são as mais favoráveis, especialmente para os refrigerantes que, sob o efeito da elevada acidez, e do gás que também confere acidez, induzem a reacção de maneira drástica (Shacman, 2005a).

A reacção de inversão acarreta alterações na doçura, densidade e conseqüentemente no Brix do xarope ou do produto final. Estas alterações são o aumento da densidade, e conseqüentemente redução no volume total de solução, e aumento de Brix e doçura (Shacman, 2005a).

Este é um ponto de extrema importância, não só para a manutenção dos padrões da bebida mas também para a redução e controlo de custos. Pelo que para efeitos de cálculos e controlo, considera – se sempre a inversão total ao final de 20 dias do produto engarrafado, com um erro bastante aceitável (Shacman, 2005a).

1.2.2. Acidez titulável e o pH

Outro factor a ter em conta quando se pretende estabelecer o conteúdo em sumo, extracto ou concentrado a incluir numa nova formulação de bebida é a contribuição do carácter ácido destes ingredientes. O conteúdo em ácido (%m/v) é determinado recorrendo a um medidor de pH por titulação directa com uma solução de hidróxido de sódio a 0,25 N com um ponto final de titulação com valor de pH de 8,1 (Taylor, 2005).

Apesar de existirem numerosos ácidos presentes (por exemplo, ácido oxálico, iso – cítrico; tartárico) na bebida terminada e nos ingredientes usados na formulação desta, é usual que a acidez seja expressa em g por 100 mL de ácido cítrico (Taylor, 2005).

Geralmente, a acidez dos sumos decresce com o aumento da maturidade da fonte de fruta, ou com o aumento dos níveis de açúcares no sumo resultante. Pelo que a razão de sólidos solúveis, isto é o valor de graus Brix, com a acidez é um valor importante para garantir a qualidade do sumo. A razão Brix/acidez é frequentemente utilizada para estabelecer parâmetros sensoriais *standard*, de forma a assegurar a qualidade e a evitar a influência das variações sazonais nos sumos, concentrados e extractos fornecidos (Taylor, 2005).

Outro parâmetro vulgarmente considerado em laboratório para analisar as características físico – químicas intrínsecas ao refrigerante/sumo, é o seu pH. Além disso, são também frequentes em laboratórios análises aos teor de dióxido de carbono (em bebidas carbonatadas) pelo método do *Zahn Nagel* ou pelo método de titulação. Além das referidas análises físico – químicas, efectua – se outras como análises cromatográficas e microbiológicas, de modo a obter uma caracterização, o mais completa possível, do refrigerante (Taylor, 2005).

1.2.3. Análise sensorial

A avaliação sensorial é frequentemente descrita, segundo a definição do Instituto de Tecnologia de Alimentos como sendo, um método científico utilizado para evocar, medir, analisar e

interpretar as respostas aos produtos percebidas através dos sentidos da visão, olfacto, tacto, paladar e audição (Anónimo, 1975).

Na indústria de refrigerantes, a análise sensorial desempenha um papel importante, pois um refrigerante até pode cumprir todas as especificações de qualidade – Brix, acidez, cor, turvação, níveis de conservantes, especificações microbiológicas, valor nutricional, etc – mas se não apresentar um sabor/aroma e aparência dentro do esperado, este irá ser rejeitado pelo consumidor. Assim, os tecnólogos alimentares tendem a pensar em termos de “propriedades sensoriais” quando formulam um refrigerante e também posteriormente quando o avaliam em termos de sabor/aroma e aparência (Shacman, 2005b).

Algumas das propriedades sensoriais analisadas e de importância para o sucesso de um refrigerante são a doçura, acidez/azedume, aroma, paladar, cor, turvação e também o conteúdo em gás ou efervescência quando se trata de uma bebida carbonatada (Shacman, 2005b).

As análises sensoriais podem ser de dois tipos: objectivas e subjectivas. Em que as objectivas fornecem dados objectivos sobre as propriedades sensoriais dos produtos e são realizadas por avaliadores treinados. Na categoria dos testes objectivos existem duas classes:

- Testes de discriminação: Permitem determinar se existem diferenças sensoriais entre as amostras;
- Testes descritivos: Possibilitam a identificação da natureza de uma diferença sensorial e/ou a magnitude da diferença (Kemp *et al.*, 2009).

Por sua vez, os testes subjectivos são conhecidos como testes afectivos ou do consumidor. Eles fornecem dados subjectivos sobre aceitabilidade, gosto ou preferência, e são realizadas por avaliadores inexperientes (Kemp *et al.*, 2009).

Algumas das finalidades da utilização deste tipo de teste são: avaliar várias amostras de novos produtos desenvolvidos; comparar as marcas da empresa em relação a produtos concorrentes; escolher de uma nova extensão de linha a partir de uma série de potenciais sabores (Shacman, 2005b).

O controlo organoléptico dos sumos/refrigerantes em desenvolvimento é de igual ou maior importância que o controlo físico – químico, pois só assim se pode saber se o desenvolvimento está a avançar no caminho pretendido. Para se desenvolver um refrigerante que atenda às demandas e gostos dos consumidores, é importante estabelecer especificações sensoriais e posteriormente realizar provas sensoriais com o objectivo de se averiguar se estas se verificam (Shacman, 2005b).

1.3. Processo industrial

Quando se trata da produção de bebidas não carbonatadas é preciso ter em conta algumas questões específicas como a prevenção da contaminação microbiológica e da deterioração do sabor e da aparência do produto, como resultado da oxidação (Ashurst, 2005).

A carbonatação de uma bebida aumenta as características em termos de sabor e proporciona a estimulação do palato, pelo que outra questão, que é preciso ter em conta na formulação de bebidas não-carbonatadas é a melhoria do sabor (Ashurst, 2005).

De forma a resolver os problemas mencionados, alguns fabricantes de bebidas não - carbonatadas recorrem a linhas de embalagem asséptica. Contudo, esta alternativa é bastante dispendiosa, pelo que opções mais viáveis como o uso de pasteurização - *flash* ou medidas de higiene controladas e um controlo rigoroso das formulações são alternativas recorrentemente empregues na indústria de refrigerantes. Nesse sentido, é comum que os conservantes sejam utilizados perto do limite máximo permitido de forma a tirar o máximo benefício das suas propriedades (Ashurst, 2005).

Outro problema potencial na formulação de bebidas não – carbonatadas é o facto de estas possuírem invariavelmente ar atmosférico no *headspace* (espaço vago) da embalagem e de não conterem dióxido de carbono para o deslocar. Esta situação poderia levar a níveis de oxigénio indesejáveis no produto, com conseqüente degradação do aroma e cor num curto período de tempo. Actualmente, este problema é solucionado através da utilização de azoto líquido que actua preenchendo o *headspace*. Todavia, uma das embalagens mais utilizadas na indústria de refrigerantes são as garrafas PET, que são permeáveis ao oxigénio, permitindo que ocorram trocas gasosas, sendo por isso necessário muitas vezes, ajustar a formulação do produto, incorporando níveis adequados de antioxidantes (ex.: ácido ascórbico), e utilizar aromas e corantes estáveis e mais resistentes à oxidação (Ashurst, 2005).

Todavia, o fabrico de refrigerantes engloba necessariamente o tratamento da água (referido anteriormente), a preparação de xaropes (simples e composto), o fabrico da bebida (diluição do xarope e pasteurização), enchimento e embalagem do produto. O processo normal de produção e embalagem asséptico e não – asséptico de refrigerantes não carbonatados é evidenciado no diagrama da Figura 3.1. Em caso de carbonatação esta ocorre no tanque em que é efectuada a diluição do xarope nas proporções determinadas (de 4:1 a 5:1) (Lidon e Silvestre, 2007).

A preparação do xarope simples e composto é uma das fases mais importantes na produção de um refrigerante e é um processo comum tanto na produção de bebidas carbonatadas como no de bebidas não – carbonatadas. Este processo apresenta diversas vantagens que facilitam e melhoram a formulação industrial de bebidas refrigerantes, entre essas vantagens está o menor tamanho dos tanques e conseqüente menor custo em espaço de armazenamento. O xarope concentrado é preparado num tanque e só posteriormente ocorre a sua diluição com água tratada. Outra vantagem

é a flexibilidade em termos de planos operacionais e de enchimento, uma vez que os xaropes podem ser preparados rapidamente e podem ser preparados de véspera ao dia do enchimento (são mais resistentes a deteriorações e crescimento microbianos devido ao seu elevado valor de Brix). Outra das vantagens é que erros de formulação em termos de pesagens dos ingredientes podem ser rapidamente corrigidos, preparando-se outro tanque de xarope “compensatório”. Para além disso, pequenos erros ou defeitos em termos de cor, turvação, doçura ou sabor são magnificados na preparação do xarope pelo que são mais facilmente detectados e corrigidos (Shacman, 2005c).

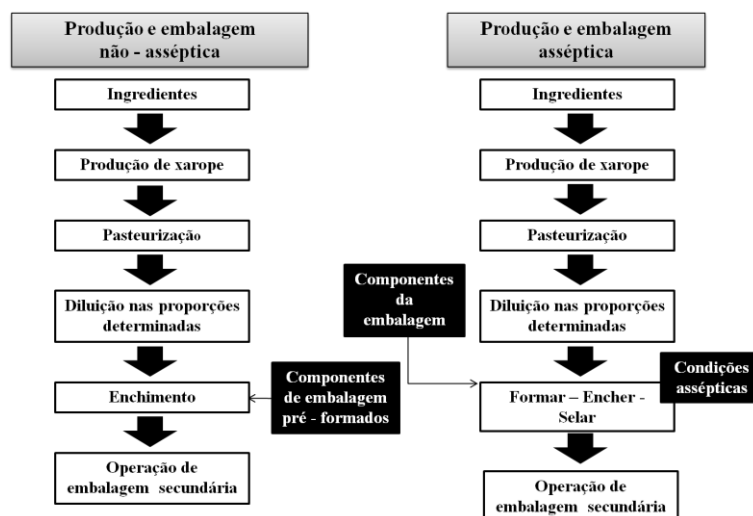


Figura 3.1 - Processo normal de produção e embalagem asséptico e não-asséptico de um refrigerante (Adaptado de Ashurst, 2005).

A preparação do xarope simples é conseguida através da diluição do açúcar em água, com a subsequente passagem por filtros e por um pasteurizador de placas. Por sua vez, o xarope composto decorre da homogeneização do xarope simples com os outros ingredientes, como os sumos de frutos, os corantes, os conservantes, a água e antioxidantes (Lidon e Silvestre, 2007).

Após a obtenção do xarope composto ocorre a diluição deste numa relação pré-estabelecida (de 1:2 a 1:6) num tanque designado por tanque de bebida terminada, também usualmente designado por saturador, onde numa fase subsequente poderá ser ou não carbonatado. Posteriormente, a bebida é enviada para o sistema responsável pelo enchimento, em que no caso de bebidas não carbonatadas ou ligeiramente carbonatadas, as embalagens devem ser pressurizadas, por recurso a azoto líquido, de forma a assegurar a rigidez durante o transporte e subsequente armazenamento e de modo a impedir a incorporação de oxigénio dentro da embalagem (Lidon e Silvestre, 2007).

Na figura 3.2. é apresentado um esquema que evidencia as operações de preparação de uma bebida refrigerante com excepção do tratamento da água.

Quanto à carbonatação, a sua eficiência é influenciada pela temperatura, concentração de substâncias dissolvidas, pressão e níveis de oxigénio dissolvido. Assim, a solubilidade do dióxido de carbono diminui com o aumento da temperatura e das substâncias dissolvidas, e aumenta com o incremento de pressão. Por sua vez, uma carbonatação eficiente requer níveis baixos de oxigénio (Lidon e Silvestre, 2007).

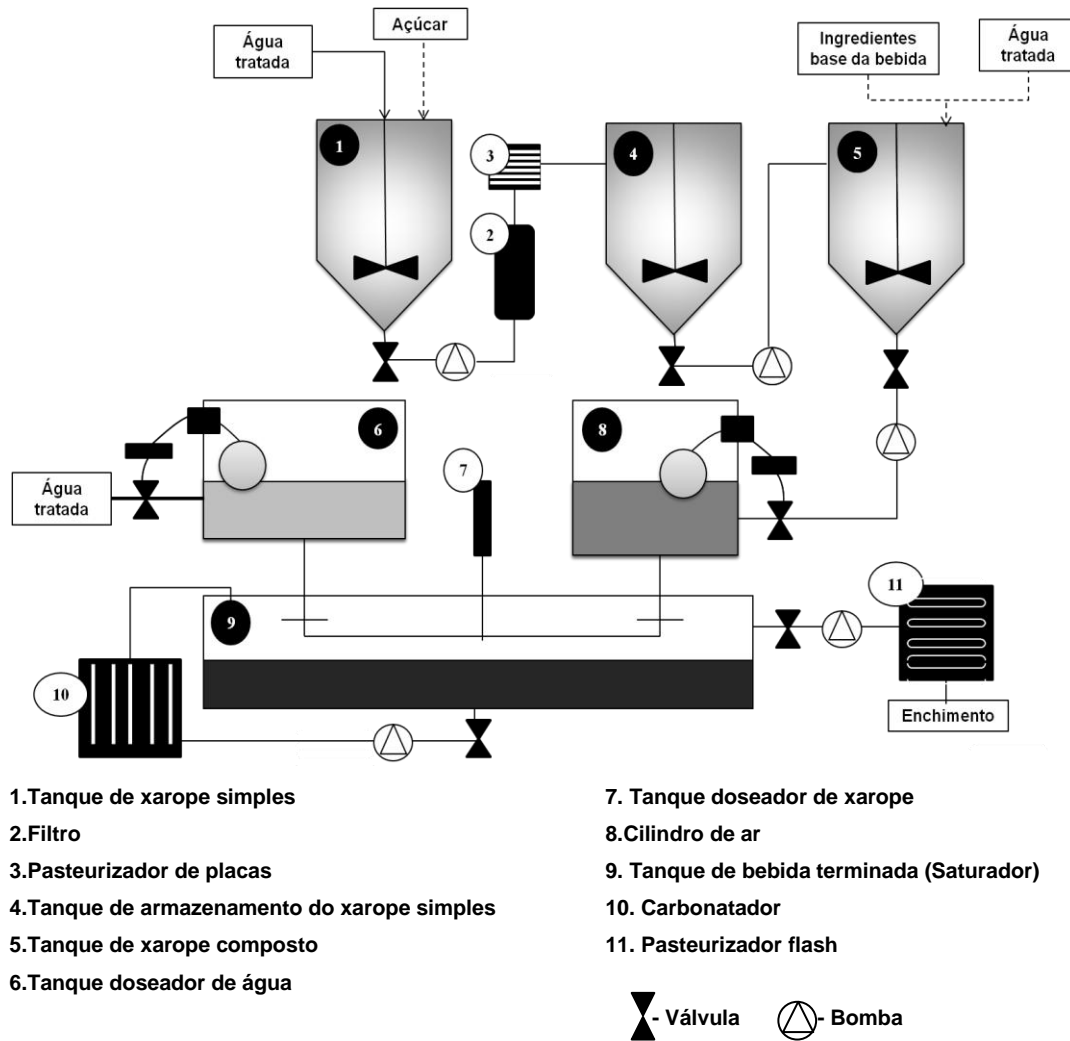


Figura 3.2.- Esquema da produção de refrigerantes desde a preparação do xarope simples até ao enchimento. A carbonatação só ocorre no fabrico de bebidas carbonatadas (Adaptado de Shacman, 2005; Steen, 2006).

A carbonatação de um produto é melhorada se a temperatura deste for baixa. Por isso, desde sempre que os carbonatadores recorrem a uma refrigeração do produto a carbonatar de 4 °C. O produto é espalhado sobre placas refrigeradas, de tal forma que o produto percorre as placas como um filme fino sob uma constante atmosfera de dióxido de carbono sob pressão. O facto de o produto ser refrigerado e exposto a uma atmosfera de dióxido de carbono sob a forma de um filme maximiza a área de superfície disponível para o dióxido de carbono promovendo - se uma carbonatação mais eficaz (Steen, 2006).

Na indústria de refrigerantes é comum o emprego da pasteurização de modo a evitar a contaminação microbiológica e posterior deterioração dos produtos. Dois tipos de pasteurizador são de uso comum na indústria de refrigerantes e estes são geralmente o em túnel e o *flash*. Contudo, é preciso ainda ter em conta que o número de unidades de pasteurização (UP) é dado pela fórmula:

$$PU / min = 1,389^{(T-60)}$$

Onde T é a temperatura em graus centígrados e que cada produto possui um número mínimo de PUs que necessita a fim de ser tratado, que depende dos riscos inerentes aos materiais utilizados e da sua vida útil (Horman, 2006).

Um pasteurizador *flash* é um permutador de calor higienicamente concebido, que pode ser na forma de placas ou tubular. O produto é aquecido e mantido a uma temperatura definida em tubagens. Posteriormente, este produto é arrefecido até à temperatura necessária para proceder-se ao enchimento. Durante o processo de aquecimento e refrigeração, ocorre a recuperação da energia térmica de modo a minimizar os custos de energia (Horman, 2006).

Já no caso de um pasteurizador em túnel, o produto é selado numa embalagem e só depois é aquecido a uma determinada temperatura durante um determinado período de tempo. Tanto a temperatura como o tempo de aquecimento são específicos para o tipo de embalagem bem como para o tipo de produto embalado. Posteriormente, o produto é sujeito a um arrefecimento (Horman, 2006).

2. Mercado de refrigerantes

A indústria de bebidas é um dos maiores e mais competitivos negócios, a nível mundial. Actualmente, a indústria de bebidas apresenta um ritmo incessante de inovação e têm-se verificado níveis de actividade de mercado, sem precedentes, que tem contribuído para uma intensa concorrência (Roethenbaugh, 2005).

Existem quatro sectores primários do mercado global de bebidas (Figura 3.3):



Figura 3.3. - Sectores e segmentos da indústria de bebidas (Adaptado de Roethenbaugh, 2005).

A indústria de bebidas não alcoólicas é um subsector da Indústria Agro-Alimentar (IAA), que assume elevada importância estratégica no contexto nacional pelo seu impacte directo e indirecto na economia. E em termos da actividade económica, este subsector da indústria agro-alimentar, está incluído na sub-classe refrigerantes e outras bebidas não alcoólicas, da nova classificação portuguesa da actividade económica (PROBEB, 2011).

O sector da indústria de bebidas refrigerantes não alcoólicas abrange a produção, a comercialização e a distribuição de um vasto conjunto de produtos alimentares, que vão desde as bebidas à base de sumos de frutos ou à base de extractos vegetais (como as colas, as bebidas de chá ou lima-limão) até às tónicas, bebidas para desportistas, bebidas funcionais ou águas aromatizadas, entre muitas outras categorias (PROBEB, 2011).

A evolução do consumo das bebidas não alcoólicas na Europa Ocidental é relativamente estável, com um ligeiro aumento de 0,5% em 2009, que representa um consumo de 100.973 milhões de litros, valor que praticamente se manteve em 2010. A categoria de bebidas não alcoólicas representa mais de 50% do consumo total deste mercado (<http://www.probeb.pt/conteudo/?id=48>).

Na Europa Ocidental, os diferentes tipos de bebidas não apresentam destaque pela evolução positiva nos últimos anos, com excepção para as bebidas carbonatadas (aumento de 2%) e bebidas energéticas (11%), que registaram aumentos acima da média (<http://www.probeb.pt/conteudo/?id=48>). A evolução das vendas de 2006 a 2010 na Europa Ocidental é evidenciada na Tabela 3.8.

Tabela 3.8 – Bebidas comerciais - Europa Ocidental* (Adaptado de <http://www.probeb.pt/conteudo/?id=48>).

Milhões de litros	2006	2007	2008	2009	2010
TOTAL BEBIDAS NÃO ALCOÓLICAS	100.531,3	100.200,3	100.481,9	100.973,0	100.981,4
Águas engarrafadas (1)	46.069,0	45.720,5	45.463,3	45.340,8	44.954,3
Sumos de frutos	6.967,0	6.788,7	6.749,3	6.735,4	6.676,3
Néctares	3.327,3	3.333,7	3.402,4	3.353,7	3.296,9
Concentrados e xaropes (2)	6.227,3	6.036,4	5.929,7	6.086,9	6.203,0
Bebidas à base de pó	52,5	51,8	51,6	50,4	49,2
Gaseificados	29.831,4	30.015,4	30.332,4	30.787,8	30.978,2
Sem gás	3.840,4	3.933,3	4.007,6	3.874,4	3.840,4
Iced tea	2.702,9	2.589,3	4.007,6	3.874,4	3.840,4
Iced coffee	63,3	70,4	76,5	83,0	87,6
Bebidas para desportistas	727,7	800,0	821,5	818,4	844,0
Bebidas energéticas	722,2	860,9	990,3	1.094,8	1.206,6
TOTAL BEBIDAS ALCOÓLICAS	46.480,6	46.049,5	45.204,3	44.113,2	43.565,0
Cerveja	29.634,1	29.093,2	28.357,6	27.618,0	27.294,3
Cidra	1.275,5	1.328,2	1.380,2	1.493,5	1.497,5
Vinho	13.736,1	13.797,9	13.670,5	13.239,0	13.040,7
Espirituosas	1.834,8	1.830,1	1.796,0	1.767,7	1.732,5
TOTAL LEITE E BEBIDAS À BASE DE LEITE	28.618,0	28.588,3	28.587,0	28.328,3	28.190,0
TOTAL BEBIDAS QUENTES (Chá (3) e café (4))	14.976,2	15.337,8	15.335,5	15.253,0	15.229,7

Legenda:

(1) Águas engarrafadas em embalagens inferiores a 10 litros. Não inclui Watercoolers; (2) Concentrados/Xaropes: diluição 1 : 8 litros; (3) 1 Kg = 64 litros; (4) 1 Kg = 5,88 litros

(* Europa ocidental - Inclui 20 países do serviço Canadean - Áustria, Bélgica, Chipre, Dinamarca, Finlândia, França, Alemanha, Grécia, Islândia, Irlanda, Itália, Holanda, Luxemburgo, Malta, Noruega, Portugal, Espanha, Suécia, Suíça e Reino Unido

Em Portugal, segundo a informação da Canadean é evidente uma evolução positiva nos últimos dois anos, com um aumento de 1% em 2009 e de 2% em 2010 no mercado de bebidas não alcoólicas. Desta forma quebrou-se a tendência de estagnação verificada nos anos anteriores. A categoria de bebidas não alcoólicas tem um peso significativo no total do mercado de bebidas comerciais (5.334,8 milhões de litros), com uma representatividade de 37%. As bebidas com maior evolução em Portugal no ano de 2010 foram os Iced tea, com um crescimento de 13% (<http://www.probeb.pt/conteudo/?id=47>). A evolução das vendas de 2006 a 2010 em Portugal é evidenciada na Tabela 3.9.

Tabela 3.9 - Bebidas comerciais – Portugal (Adaptado de <http://www.probeb.pt/conteudo/?id=47>).

Milhões de litros	2006	2007	2008	2009	2010
TOTAL BEBIDAS NÃO ALCOÓLICAS	2.008,3	1.983,5	1.941,0	1.959,1	1.996,5
Águas engarrafadas (1)	1.029,0	1.003,8	957,4	965,3	982,8
Sumos de frutos	21,8	24,6	27,2	27,6	26,9
Néctares	81,5	83,2	84,2	86,1	89,2
Concentrados e xaropes (2)	15,9	16,1	18,1	19,5	21,4
Bebidas à base de pó	21,3	21,4	23,5	23,1	22,9
Gaseificados	505,4	487,1	459,8	446,5	442,6
Sem gás	166,3	172,6	170,0	155,8	147,6
Iced tea	160,0	162,5	191,0	226,3	255,6
Iced coffee	0,0	0,1	0,1	0,1	0,1
Bebidas para desportistas	2,9	5,6	5,1	4,5	3,1
Bebidas energéticas	4,3	4,6	4,6	4,4	4,4
TOTAL BEBIDAS ALCOÓLICAS	1.107,3	1.095,7	1.020,8	985,4	974,1
Cerveja	671,5	661,4	636,3	612,7	603,9
Vinho	375,8	375,8	352,7	342,4	340,9
Espirituosas	60,0	58,5	31,8	30,2	29,3
TOTAL BEBIDAS À BASE DE LEITE	1.118,6	1.174,2	1.147,9	1.143,6	1.148,5
TOTAL LEITE (Branco)	937,7	967,8	932,9	922,6	915,7
TOTAL BEBIDAS QUENTES (Chá (3) e café (4))	296,0	301,8	302,8	301,5	300,0

Legenda:

(1) Águas engarrafadas em embalagens superiores a 10 litros; (2) Concentrados diluição 1 : 8 litros; (3) 1 Kg = 64 litros; (4) 1 Kg = 5,88 litros

3. Tendências no mercado de refrigerantes

É importante conhecer o que o consumidor deseja para um bom desenvolvimento, e para tal, é importante um conhecimento aprofundado e dinâmico do mercado de modo a desenvolver um refrigerante que atenda às demandas e gostos dos consumidores. Todavia, têm ocorrido numerosas mudanças. Hoje em dia, o consumidor possui uma maior consciência nutricional, estando cada vez mais interessado em produtos que contribuam directamente para a sua saúde, que para além de

nutritivos e agradáveis, previnam doenças e ajudem a melhorar o bem-estar físico e mental (O' Donnel, 2005; Siró *et al.*, 2008). Em resultado desta maior consciência nutricional, tem-se verificado um crescimento exponencial das bebidas funcionais e de bebidas mais naturais (Gruenwald, 2009).

Desde 1985, as tendências gerais que têm influenciado a inovação na indústria alimentar e de bebidas têm sido: a conveniência; o prazer; a fusão étnica; a tradição; e a saúde e o bem-estar. Actualmente, segundo a revista *Soft Drinks International* (2011) as palavras condutoras para a indústria mundial de refrigerantes são a "saúde", a "naturalidade" e a "energia". E de acordo com a *Innova Market Insights*, 60% dos refrigerantes lançados e registados em todo o globo nos anos de 2010, tiveram um posicionamento de saúde (Sorenson e Bogue, 2009; Soft Drinks International, 2011).

Contudo, tem-se também verificado uma aumentada convergência de três tendências chave: "saúde", "premium/prazer" e "conveniência". Sendo também de referir a emergência da "ética" como a quarta tendência chave (Meziane, 2007).

Das quatro tendências, a saúde tem-se tornado a mais importante em termos de novos produtos lançados no mercado. Aliás, esta tendência tem sido utilizada como um benefício acrescentado às outras tendências, de forma a promover a diferenciação dos produtos e assegurar que as preocupações crescentes dos consumidores com comida não-saudável, não o afastam dos produtos de "conveniência" e "premium/prazer" (Meziane, 2007).

A indústria de refrigerantes tem tentado ir de encontro às necessidades dos consumidores, pelo que uma das primeiras e grandes tendências foi e é a criação das formulações de "baixas calorias", "dieta" ou "light". A procura de novos sabores e de ingredientes não tão usuais é outra área de grande desenvolvimento. Os extractos botânicos como o guaraná e o ginseng têm sido empregues em grande parte das bebidas lançadas no mercado, nos últimos anos (Shacman, 2005a).

Actualmente, os consumidores estão mais dispostos a experimentar novos sabores, pelo que uma das tendências é a fusão de sabores. Um exemplo bastante comum é a fusão de frutas e vegetais (ex.: cenoura e laranja). Além disso, os sabores exóticos e tropicais estão a crescer em popularidade (ex.: açaí, a acerola, noni e maracujá), assim como a aplicação de sabores herbais e florais como flor de maracujá, erva-cidreira, tomilho, pétalas de rosa e também ervas medicinais. É importante salientar que é essencial manter a autenticidade do sabor original, particularmente no caso da fruta, uma vez que os consumidores de produtos posicionados como saudáveis esperam automaticamente que estes sejam naturais e frescos (Humphries, 2007).

O contínuo declínio das vendas de refrigerantes carbonatados nos mercados europeu e americano têm sido equilibrados pela crescente procura do consumidor de bebidas alternativas que são percebidas como naturais ou saudáveis, como bebidas à base de água e aromatizadas; sumos Premium; bebidas não-carbonatadas à base de sumo de fruta; chás prontos-a-beber, bebidas de soja e bebidas funcionais (Sorenson e Bogue, 2009).

Aliás, uma das estratégias dos produtores de bebidas carbonatadas para responder à tendência “natural” é utilizar fontes de açúcar mais naturais como açúcar de cana e de beterraba e utilizar sistemas de corantes naturais como extracto de maçã e de caramelo. Um exemplo é a “*Pepsi Raw*” lançada no Reino Unido em 2008. É ainda de salientar que dada a imagem negativa dos xaropes de açúcar, normalmente utilizados na formulação de bebidas carbonatadas, actualmente, muitos produtores estão a optar por adoçar as suas bebidas com sumo, de modo a desenvolverem uma imagem mais saudável dos seus produtos. A “*IZZE*” é uma bebida exemplo desta tendência. Contém 70% de sumo e é promovida como “*sparkling juice*” (Dieroff, 2011).

O mercado das bebidas funcionais encontra-se assim em crescimento, com uma tendência para o “natural” e “autêntico” (produtos com uma aparência natural), pelo que este mercado se tem tornado bastante atractivo para as empresas e representa uma importante orientação estratégica. As bebidas funcionais apresentam uma taxa de crescimento de 15% a 20% por ano, e entre as principais categorias de bebidas lançadas no mercado estão as bebidas enriquecidas com vitaminas, as bebidas com propriedades probióticas e as bebidas isosmóticas (O’ Donnel, 2005; Sorenson e Bogue, 2009).

O termo “alimento funcional” foi usado pela primeira vez no Japão, na década de 1980. Na indústria de refrigerantes e sumos, o termo “funcional” é utilizado na forma mais ampla possível. A melhoria do desempenho desportivo e aumento da agilidade mental são alguns dos benefícios oferecidos pelas bebidas funcionais. Estes benefícios não seriam normalmente considerados benefícios para a saúde no sentido mais estrito (Siró *et al.*, 2008; Shacman, 2005a).

O objectivo de uma bebida funcional não é apenas aliviar a sede, mas também contribuir para uma sensação de bem-estar do consumidor, ajudando na dieta, no metabolismo, no estilo de vida, etc. Por outras palavras, tem a intenção de aumentar os níveis de energia, combater o envelhecimento, a fadiga e o stress, melhorar o desempenho desportivo, combater a incidência e sintomas de doenças específicas, etc. (O’ Donnel, 2005; Paquin, 2009).

Além de assegurar os benefícios em termos de saúde pretendidos, a formulação de bebidas funcionais tem por objectivo desenvolver uma bebida estável, de perfil sensorial apelativo e com razoável tempo-de-prateleira (Fallourd e Viscione, 2009).

O processo de formulação de uma bebida funcional não ocorre só pela adição de ingredientes funcionais, mas também pela redução conjunta ou não de níveis de ingredientes considerados menos saudáveis, como açúcares e gordura. Apesar da aparente simplicidade do processo de formulação destas bebidas, a incorporação da quantidade necessária do ingrediente de modo a atingir a propriedade funcional desejada pode ser um verdadeiro desafio (Fallourd e Viscione, 2009).

A incorporação de ingredientes funcionais podem ter impactes directos na textura (ex.: fibras) e/ou na estabilidade (ex.: minerais, proteínas). Por sua vez, a redução dos níveis de gordura e

açúcares pode ter também impacte na textura da bebida e em alguns casos na sua estabilidade (Fallourd e Viscione, 2009).

O ambiente de grande inovação verificado na indústria de bebidas é em grande parte devido à categoria de bebidas funcionais, sendo que as principais tendências tendo como base a tendência – chave “bem – estar”, são as bebidas energéticas e desportivas; a saúde cognitiva; o anti – envelhecimento; a saúde óssea e articular; a saúde cardiovascular; o controlo de peso e a saúde da visão. Outros produtos emergentes são as bebidas restauradoras, como por exemplo bebidas que permitam a recuperação depois de doente; dêem suporte ao sistema imunitário e restauradoras do sono. É ainda de salientar, os produtos funcionais desenvolvidos para às mulheres como produtos “slimmers” (para emagrecer); bebidas projectadas para a gravidez e menopausa, etc. (Sorenson e Bogue, 2009; Humphries, 2007).

No controlo de peso, as bebidas que controlam a saciedade e/ ou são substitutos de refeições estão a ganhar espaço para se desenvolverem, na maioria dos mercados ocidentais. Estas são geralmente lácteas ou à base de proteínas, podendo conter fibras. Assim, as proteínas mantêm um grande crescimento nesta área, destacando-se a PSL que devido a sua elevada solubilidade tem levado ao surgimento de produtos à base de sumo e água e ao conseqüente abandono dos produtos de base láctea. Um exemplo é a “*Whole Water*” lançada pela Fonterra Brands Ltd, que contém PSL’s e fibras e que “ajuda a reduzir a sensação de fome” (Tallon, 2007; Haffner, 2011).

Ainda na área de controlo de peso, os compostos botânicos são alvo de estudo. Compostos bioactivos que restabelecem a “ephedra” e óleos e ácidos gordos, como o ácido linoléico conjugado (CLA) começam a entrar no mercado por serem possíveis manipuladores dos compostos bioactivos proteicos como a citidina monofosfato (CMP) e a guanosina monofosfato (GMP) que já mostraram influenciar o apetite (Tallon, 2007).

Na área da saúde do coração e controlo da glicemia, os óleos de peixe e a redução de sal são importantíssimos, pelo que os compostos botânicos poderão encontrar dificuldades na sua aceitação. Aliás, existem ainda poucas evidências científicas da sua funcionalidade nesta área, sendo de salientar que na área do controlo da glicemia, poucos estudos têm sido efectuados em diabéticos que comprovem o efeito dos novos compostos. Alguns exemplos de compostos sugeridos por terem prováveis benefícios nestas áreas são o crómio, o melão amargo e o glucomanano (*amorphophalluskonjac*). Este último também tem sido associado a alguns efeitos benéficos sobre o controlo da pressão arterial (Tallon, 2007).

Quanto à saúde digestiva, as enzimas parecem ser a nova força em suplementos dietéticos. Alguns exemplos de compostos já utilizados nesta categoria de produtos são os prebióticos como os frutoligossacarídeos; a inulina; a lactulose; os oligossacarídeos de soja; os xilo-oligossacarídeos e o isomalto-oligossacarídeos (IMO) (Tallon, 2007).

O mercado de bebidas energéticas e bebidas direccionadas para a saúde cognitiva continuará em crescimento. Aliás, com o declínio do volume de vendas em muitos mercados desenvolvidos das bebidas carbonatadas, uma das estratégias dos produtores tem sido combinar as bebidas carbonatadas com as bebidas energéticas (Humphries, 2007; Tallon, 2007).

Outra das tendências neste segmento de bebidas funcionais tem sido o desenvolvimento de bebidas energéticas para ocasiões específicas, de modo a atingir pequenos nichos de mercado como motoristas e camionistas. E a tendência mais recente neste segmento é na área da performance sexual (Humphries, 2007).

Quanto às bebidas direccionadas para a saúde cognitiva, estas têm-se tornado cada vez mais importantes ao longo dos anos. Hoje em dia, existem bebidas direccionadas para: o desenvolvimento cerebral [enriquecidas com ómega 3 como ácido eicosapentaenoico (EPA) e ácido docosahexaenóico (DHA)]; o foco mental, com ingredientes como quercitinas, chá verde e catequinas; a memória; a melhoria do humor e também para a anti-demência (Humphries, 2007).

Actualmente, com uma população envelhecida e com o conseqüente medo das doenças, os produtos anti – demência têm-se tornado mais importantes. Além disso, as bebidas que são comercializadas como auxiliares na manutenção do foco mental também se têm tornado bastante populares entre os estudantes e as pessoas que tentam combater a fadiga causada pelo trabalho (Humphries, 2007).

No presente, a cafeína ainda é o composto com mais impacto neste tipo de formulações. Contudo, existe uma grande procura e investigação por compostos botânicos que aumentem os níveis energéticos. Todavia, muitos destes ingredientes necessitam de uma investigação substancial para que possam ser considerados seguros (Tallon, 2007).

Em crescimento significativo encontra-se a área de saúde óssea, em que novos ingredientes com acção directa na inflamação relacionada com a degeneração das articulações estão a ser estudados. As vitaminas e minerais ainda encabeçam a lista de ingredientes neste tipo de segmento, mas exemplos de novos ingredientes, que começam a ser utilizados neste tipo de formulações, são o sulfato de condroitina e o hialuronato de sódio (Tallon, 2007).

O crescimento da população feminina deverá ultrapassar ligeiramente o crescimento da população total de 2010 – 2014, pelo que refrigerantes com alvo neste segmento estão entre os de crescimento mais rápido. As fórmulas direccionadas para a beleza com ingredientes como o colagénio, aloé e vitamina E, que já são familiares aos consumidores de produtos de cuidados de pele, estão a aparecer cada vez mais sobre a forma de água, sumo e chá pronto – a – beber, numa tentativa de atingir os consumidores do sexo feminino. Estes também podem ser combinados com proteínas e fibras para controlo do peso (Haffner, 2011).

Neste tipo de produtos posicionados como alimentos e bebidas cosméticas, um dos ingredientes que tem ganho destaque em bastantes produtos é a coenzima Q₁₀ (CoQ₁₀), mas novos

ingredientes como o ácido hialurónico poderão vir a tornar-se um óptimo nutriente neste segmento (Tallon, 2007).

Em Portugal, um exemplo de bebida direccionada para a beleza existente no mercado é “Sunlover”. Esta é uma bebida inovadora e funcional, desenvolvida no contexto da nutricosmética. Tem como objectivo saciar a sede ao mesmo tempo que ajuda a nutrir e a vitaminar a pele, favorecendo o bronzado (<http://drinksunlover.com/#/sunlover/o-que-e>).



Figura 3.4 - Bebida funcional Sunlover (<http://4.bp.blogspot.com/xorn7RhEFfc/Tej1L5YaGkl/AAAAAQM/qFFNC-IRBhss1600/sun.bmp>).

É ainda importante denotar que, actualmente, os produtos funcionais já não podem ser considerados um grupo de produtos restrito. Este tipo de produtos aparecem em categorias “tradicionais” como as de sumos, chás e águas. O desenvolvimento de produtos está a esbater as fronteiras entre essas categorias, pelo que já existem produtos como chás combinadas com sumo de frutas e nutrientes e bebidas carbonatadas reforçadas com ingredientes como chá verde. Assim, é de notar que uma das tendências mais significativas é a de “produtos híbridos” (Humphries, 2007).

Um bom exemplo da tendência “híbrida” é a *hydration plus* (mais hidratação). Esta tendência combina a hidratação com benefícios funcionais ou sensoriais. Exemplos de produtos desta tendência e que estão em crescente aumento no mercado são as águas enriquecidas com ingredientes funcionais como vitaminas, minerais e extractos botânicos, assim como as águas aromatizadas com baixo valor calórico (Humphries, 2007).

Como já foi referido, a tendência “saúde” e/ou “bem – estar” tem convergido com outras tendências como a “conveniência” e o “premium/prazer”. Quanto à convergência com a conveniência, a maior tendência tem sido a “porção única” (em 4,5% dos produtos lançados em 2006). Contudo, a “rapidez” e o “num instante” têm vindo a crescer rapidamente desde 2004. E exemplos dessas tendências são os refrigerantes em forma de pó em saquetas individuais, por exemplo direccionados para mulheres com vidas stressantes, que podem ser transportados facilmente durante as viagens e que reduzem a quantidade de lixo quando consumidos (Humphries, 2007).

Em conclusão, a saúde e o bem estar ainda impulsionam o desenvolvimento de novos produtos em refrigerantes. Os consumidores em todo o mundo ainda respondem a mensagens de dietas e estilos de vida mais saudáveis através de bebidas. E novas e inovadoras combinações de

ingredientes, em novos produtos dirigidos a novos grupos de consumidores e para novas ocasiões de uso são alguns dos métodos principais utilizados para comunicar benefícios de saúde únicos (Haffner, 2011).

Por último, é de referir que um factor importante para o sucesso de um produto é sem qualquer dúvida a aceitação do consumidor. Pelo que as bebidas mais naturais e funcionais podem deparar-se com alguns obstáculos. Em primeiro lugar, os consumidores esperam maus sabores nas bebidas enriquecidas com ingredientes que não associam ao produto, como por exemplo bebidas enriquecidas com ómega 3, que é extraído do óleo de peixe. O que demonstra que muito poucos consumidores estão dispostos a comprar alimentos funcionais, que são inferiores em sabor aos seus homólogos não – funcionais. Como regra, os consumidores parecem avaliar alimentos funcionais em primeiro lugar como alimentos, o que indica que os benefícios funcionais até podem trazer valor acrescentado para os consumidores, mas não podem compensar as propriedades sensoriais dos alimentos (Bech – Larsen e Scholderer, 2007).

A segunda constatação é que os consumidores estão muito mais propensos a aceitar ingredientes funcionais com uma imagem de saúde bem estabelecida e amplamente atraente do que ingredientes funcionais com que não estão familiarizados ou atraem apenas aos consumidores com avançado conhecimento médico ou em nutrição. Por isso, é muito mais fácil para um alimento funcional enriquecido com compostos conhecidos pelos seus benefícios para a saúde (como o cálcio, vitamina C, ou ómega-3) ganhar a aceitação do consumidor do que para compostos que são praticamente desconhecidos para o público em geral (tais como o selénio ou xilitol) (Bech – Larsen e Scholderer, 2007).

3.1. Bebidas desportivas

Actualmente, os consumidores estão a tomar cada vez mais consciência da sua saúde e da sua forma física e como resultado, as bebidas direccionadas para a nutrição desportiva e performance desportiva estão agora a mover – se dos segmentos de mercado dos desportistas profissionais para o mercado do consumidor comum. E apesar da tendência da nutrição desportiva se ter iniciado nos Estados Unidos da América, esta está a ganhar grande velocidade no mercado Europeu (Williams, 2010).

Segundo o *Euromonitor*, o mercado global de nutrição desportiva foi avaliado em 4,7 biliões \$US em 2009, liderado pela América do Norte (3,2 biliões) e Europa ocidental (713,6 milhões). Já o *Datamonitor*, que classifica a nutrição desportiva como as bebidas desportivas e as barras energéticas, coloca o mercado europeu (incluindo a França, Alemanha, Itália, Holanda, Rússia, Espanha, Suécia e Reino Unido) em 2,8 biliões \$US em 2008, com previsão para chegar 3,6 biliões \$US em 2013 (Heller, 2010).

Actualmente, a Alemanha é o maior mercado, segundo o *Datamonitor*, enquanto que para a Espanha estão previstos altos níveis de crescimento anual (9,8%) e que se tornará líder de mercado até 2013. Em contraste, para a Alemanha está previsto um nível muito mais baixo de crescimento anual (1,6%) no mesmo período (Heller, 2010).

Os estudos de mercado colocam as vendas dos EUA em nutrição desportiva em valores de 2,9 biliões \$US em 2008, com previsão de crescimento para 3,5 biliões \$US até 2013. Os números para o Canadá são 165,8 milhões \$US em 2008 e 200,8 milhões \$US, em 2013, enquanto que o mercado sul-americano (incluindo Argentina, Brasil, Chile, Colômbia, México, Peru, Uruguai e Venezuela) foi avaliado em 757,2 milhões \$US em 2008, com crescimento para 1,2 biliões \$US até 2013 (Heller, 2010).

O chefe de pesquisa em bebidas do *Euromonitor*, Richard Haffer diz que: *“As bebidas desportivas vão ter crescimento principalmente vindo da Ásia e da Europa Ocidental”*, e que: *“Na Europa Ocidental o crescimento virá mais a partir da segmentação do mercado, ou seja, de bebidas desportivas dirigidas às mulheres. Os EUA e o Japão são dois mercados altamente desenvolvidos [para bebidas desportivas] e eles estarão arrastando para baixo o crescimento mundial, que continuará, mas a um ritmo muito mais lento. A maioria das oportunidades será fora dos mercados que tradicionalmente têm sido os maiores mercados para as bebidas desportivas.”* segundo Richard Haffer (Russell, 2011).

A eficácia da ingestão de bebidas desportivas que contêm glícidos no desempenho físico é demonstrada em numerosos estudos. Em geral, estas investigações concluíram que a ingestão de bebidas desportivas durante o exercício (em exercício prolongado em particular) aumentam o tempo para a sensação de fadiga, diminuem a quantidade de tempo necessária para concluir uma determinada tarefa, ou aumentam a quantidade de trabalho realizado em um determinado momento. Estes factores traduzem - se assim numa melhora geral no desempenho (Hill *et al.*, 2008).

A investigação sobre a composição da bebida desportiva mais apropriada é baseada na medição de diversas variáveis, que afectam a taxa na qual o conteúdo de uma solução aquosa é absorvida pelo organismo. Segundo a revisão bibliográfica efectuada por Ferreira *et al.* (2010), os resultados das investigações sobre bebidas para desportistas, os efeitos do tipo e da concentração de glícidos e da composição de electrólitos, assim como a influencia do volume e a densidade no esvaziamento gástrico e da osmolaridade na sua absorção intestinal, mostram que:

- a reposição da perda de fluidos é limitada pelo esvaziamento gástrico e absorção intestinal;
- quando a frutose é ingerida em iguais quantidades à glucose ou à sacarose, a sua absorção depende da dose;
- a glucose e a frutose são ambas absorvidas em concentrações elevadas quando comparadas com a glucose isolada, mas com uma moderada absorção de água (maior osmolaridade) e pouca absorção de sódio;

- a sacarose e as maltodextrinas podem ser empregues, sem afectar a absorção da glicose e da água;
- a mistura de glícidos é recomendada para maximizar a absorção;
- soluções contendo sacarose e glucose tem demonstrado estar associadas com uma elevada absorção de água e glucose, mas com a absorção de quantidades moderadas de sódio;
- a absorção do fluido parece aumentar quando comparado com a ingestão de água isolada, mas não é significativamente alterada pela concentração de soluções isocalóricas de glícidos e amido superiores a 8% (não alteram muito a TEG);
- as concentrações superiores a 10% de glucose ou frutose 2 a 3% podem originar perturbações gastrointestinais e diminuir a absorção de água (diminuem a TEG);
- as soluções hiperosmóticas para o plasma humano (maior 280 mOsm/Kg) estimulam menos a absorção da água e a sua maior secreção dentro do lúmen gastrointestinal, resultando numa potencial desidratação;
- as soluções hiposmóticas e isosmóticas (menor 280 mOsm/Kg) promovem a absorção da água (Hill *et al.*, 2008; Hopkins e Wood, 2006; Ferreira *et al.*, 2010).

O termo “isotónico” no contexto das bebidas, significa as bebidas contém o mesmo número de substâncias activas osmoticamente por unidade de massa que o sangue, cuja osmolalidade é normalmente regulada em torno de 280-290 mmol/kg (Mettler *et al.*, 2006).

É ainda de referir que se acredita que a inclusão de glícidos é o determinante mais importante para a absorção de água. A taxa de absorção de água de uma solução isosmótica de glícidos é cerca de seis a dez vezes maior do que a da água pura, independentemente da inclusão de electrólitos. Isto acontece porque a absorção de água é um processo passivo facilitado pelo gradiente osmótico resultante da absorção de solutos, ou seja, o transporte activo de nutrientes através da mucosa intestinal faz com que a água siga os solutos por osmose até que a osmolalidade em ambos os lados da mucosa seja a mesma. Em suma, o transporte de glícidos e o co-transporte com o sódio é o processo pelo qual a maioria das bebidas desportivas comerciais fornecem electrólitos, água e energia ao corpo (Hill *et al.*, 2008).

Outra questão a ter em conta é que uma bebida desportiva pode ser hiperosmótica desde que seja ingerida após o exercício físico (em repouso), não causando assim desconforto intestinal. A alta osmolalidade de bebidas de recuperação desportiva não é, portanto, uma questão de preocupação contanto que a rehidratação rápida não seja o objectivo principal (Mettler *et al.*, 2006).

Quando se pretende formular uma bebida desportiva tradicional deve – se ter em conta três factores principais: (1) A fonte de glícidos; (2) Os electrólitos e (3) A osmolalidade, e tentar equilibrar estes factores com a palatibilidade. É fundamental que o consumidor reconheça que o produto é agradável e confortável para beber, durante e após a actividade física. Os aspectos em termos de palatibilidade que necessitam de atenção são a carbonatação, a doçura, o salgado, a acidez e a intensidade do sabor/aroma (Palmer, 2005).

Quanto aos glúcidos, em primeiro lugar deve-se efectuar uma decisão quantitativa (geralmente entre 60 – 80 g de glúcidos totais por litro), equilibrando o conteúdo energético com a inibição do esvaziamento gástrico que ocorre em concentrações mais elevadas de glúcidos. Em seguida, deve-se decidir que glúcidos serão utilizados. Os factores-chave são o peso molecular, ou seja, a contribuição para a osmolalidade (quanto menor o peso molecular, maior o contributo para a osmolalidade) e o conteúdo em electrólitos dos glúcidos. Os glúcidos mais usados nas bebidas desportivas são a glicose, a frutose, a sacarose e as maltodextrinas (Palmer, 2005; Ferreira *et al.*, 2010).

A maioria das bebidas desportivas são fórmulas isosmóticas (possuem uma pressão osmótica correspondente à do sangue). Contudo, durante a formulação de uma bebida desportiva é necessário realizar uma série de ajustes para atingir a composição e a osmolalidade – alvo. Por exemplo, se a osmolalidade tem de ser aumentada através da substituição de maltodextrinas por monossacárideos, em seguida, será necessário adicionar sais para manter os níveis de electrólitos, o que por sua vez irá aumentar a pressão osmótica e exigir uma nova redução na maltodextrina. A Tabela 3.10 indica como os componentes de uma bebida isosmótica desportiva típica contribuem para a sua osmolalidade (Palmer, 2005).

Tabela 3.10 - Influência na osmolalidade dos vários ingredientes de uma bebida desportiva (Adaptada de Palmer, 2005).

Ingredientes	Percentagem total de osmolalidade
Glúcidos	70 %
Sais	10 %
Sumo/Aromas/Ácidos/Adoçantes	15 %
Carbonatação	5 %

Geralmente, as bebidas podem ser classificadas em três categorias principais, consoante a sua concentração em glúcidos, em isosmóticas (quando contêm de 6 a 8% de glúcidos), hiposmóticas (quando a sua concentração é inferior) e hiperosmóticas (quando a sua concentração é superior a este intervalo de valores) (Ferreira *et al.*, 2010).

Actualmente, verifica-se ainda a inclusão de polímeros de glucose nas bebidas, com a finalidade de aumentar o conteúdo de glúcidos, sem elevar a osmolaridade (Ferreira *et al.*, 2010).

Quanto à suplementação de potássio, sabe-se que a prática de exercício físico intenso aumenta as exigências de potássio. O potássio é utilizado na contracção muscular, proporcionalmente à quantidade, intensidade e duração das contracções e é eliminado através do suor. Quanto maior for a perda do potássio, mais estimulado fica o organismo para armazená-lo, podendo ocorrer o risco de deficiência de potássio para a contracção muscular, cujo sintoma clássico são as câibras. No

entanto, a sua suplementação nas bebidas não é necessária, quando a alimentação compensa as perdas, pois a quantidade perdida no suor não é significativa (Ferreira *et al.*, 2010).

A suplementação de magnésio, de cloro e de cálcio tem sido referida como benéfica. Mas as perdas destes electrólitos não são significativas e normalmente são utilizados apenas para prevenção de deficiências quando adicionados a bebidas desportivas. Considera-se ainda desnecessária a inclusão de outros minerais nas bebidas, pois são aportados normalmente através de uma dieta equilibrada (Ferreira *et al.*, 2010).

De uma forma geral é referido que as bebidas adequadas para desportistas necessitam conter uma concentração aproximadamente de 0.12% de sódio e de 6-8% de glícidos. Na tabela 3.11 são indicadas as doses recomendadas para os vários ingredientes que podem ser utilizados na formulação de uma bebida desportiva clássica (Ferreira *et al.*, 2010).

Tabela 3.11 - Quantidades de ingredientes recomendada para a formulação de uma bebida desportiva típica (Adaptada de Brouns e Kovacs, 1997- citado por Ferreira *et al.*, 2010).

Ingredientes		Quantidades recomendadas
Conteúdo recomendado	Sódio	Máx. 1100 mg/L
	Glícidos	30 – 100 g/L
	Osmolalidade	< 500 mOsm/L (favoravelmente isosmótica para hiposmótica)
Ingredientes opcionais	Cloro	Máx. 1500 mg/L
	Potássio	Máx. 225 mg/L
	Magnésio	Máx. 100 mg/L
	Cálcio	Máx. 225 mg/L
Fontes de glícidos	Frutose	Máx. 35 g/L
	Glucose	Máx. 55 g/L
	Sacarose	Máx. 100 g/L
	Maltose	Máx. 100 g/L
	Maltodextrinas	Máx. 100 g/L
	Amidos solúveis	Máx. 100 g/L

As bebidas desportivas servem assim, para fornecer principalmente energia, água e electrólitos sob uma forma palatável e facilmente assimilável, sendo apropriadas para o consumo antes, durante e depois das actividades desportivas e físicas (Palmer, 2005).

Por último, é importante ressaltar que apesar das bebidas desportivas serem consideradas um grupo definido de bebidas funcionais, são frequentemente confundidas com a categoria de bebidas energéticas. Há muita confusão sobre os dois termos, aliás a maioria das pessoas usa – os

como sinónimos, quando na realidade “bebidas energéticas” e “bebidas desportivas” são conceitos completamente diferentes (Amendola *et al.*, 2004).

As bebidas energéticas são comercializados pelo seu efeito estimulante mental, sendo basicamente refrigerantes que contêm níveis elevados de substâncias, como cafeína, taurina e glucuronolactona. Por sua vez, as bebidas desportivas não têm um efeito estimulante, e embora algumas contenham cafeína, os níveis utilizados não são altos. Em vez disso, as bebidas desportivas são especificamente concebidas e/ou comercializadas para as pessoas que realizam actividades físicas (Amendola *et al.*, 2004).

3.2. Bebidas desportivas mais funcionais

As bebidas desportivas, como já indicado, podem ser divididas em três categorias principais: hiposmóticas; isosmóticas e hiperosmóticas, e possuem tradicionalmente uma constituição de 4-8% de glícidos e 2-60 mg de sódio por 100 mL. Mas tal como no mercado das bebidas em geral, as bebidas desportivas estão a tornar-se cada vez mais funcionais (Williams, 2010).

Hoje em dia, são adicionados nutrientes-extra como vitaminas e minerais, fibras, antioxidantes, aminoácidos, creatinina, carnitina, glucosamina e proteínas às bebidas desportivas. Por outro lado, verifica-se um crescente esforço para reduzir ou eliminar o sal, a gordura, o açúcar, as gorduras *trans*, os corantes artificiais e os glícidos no sector da nutrição desportiva (Williams, 2010).

Agora, o mercado inclui uma variedade muito maior de bebidas desportivas que pretendem atingir uma grande variedade de necessidades, idades e personalidades. Desde as bebidas desportivas direccionadas para as crianças às bebidas de água de coco, o mercado de bebidas desportivas está a crescer em tamanho e a adoptar bebidas que normalmente pertenciam a outras categorias. Consequentemente, existem algumas tendências distintas quanto à formulação de bebidas desportivas (Spano, 2010).

A primeira tendência é a categorização em segmentos que atendem às necessidades dos desportistas. Um exemplo é a “*Powerade Play for kids*”, que foi formulada para as crianças, mas tendo em atenção a preocupação das mães uma vez que as crianças têm um maior risco de desidratação e de doenças provocadas pelo calor. Esta bebida contém 20% da dose diária de quatro vitaminas do grupo B, 100% da dose diária de vitamina C, 20% da dose diária de zinco, electrólitos e 25% menos de açúcar (Spano, 2010).

A segunda tendência prende-se no conceito de *nutrient timing*, ou seja, consumir certos nutrientes antes do treino, facilitar uma maior adaptação ao treino e/ou diminuir o tempo de recuperação. As bebidas de recuperação à base de proteína ou bebidas prontas-a-beber, embora não encaixem no modelo tradicional de bebidas desportivas, são as bebidas mais conhecidas nesta categoria. Outro exemplo são as bebidas que contêm glucosamina e sulfato de condroitina, que são

formuladas para promover a saúde das articulações. A glucosamina e sulfato de condroitina são compostos com conhecidos pelos seus efeitos de reparação e de desaceleração do processo degenerativo ao nível da cartilagem articular. (Brief *et al.*, 2001, Spano, 2010; Williams, 2010).

Uma terceira tendência envolve um cruzamento entre bebidas desportivas e as bebidas mais funcionais. Uma das bebidas que exemplifica bem esta tendência são as bebidas com água de coco. Os atletas começam a aderir a estas bebidas, devido ao poder de rehidratação da água de coco (bebida naturalmente isosmótica). As águas funcionais também se podem enquadrar nesta terceira tendência (Spano, 2010).

Hoje em dia, a adição de ingredientes funcionais em bebidas desportivas é efectuada com o intuito de melhorar as propriedades energéticas e hidratantes da bebida, aumentar a taxa de recuperação e também aumentar a saciedade (Williams, 2010).

Todas estas três tendências vão continuar no futuro próximo, com as bebidas desportivas a tornarem-se cada vez mais segmentadas, com produtos especificamente dirigidos para as mulheres, produtos formulado para as crianças e bebidas com ingredientes ainda mais funcionais. Além disso, a frase *nutrient timing* continuará a crescer em popularidade, e pesquisas nesta área irá guiar as tendências em ingredientes para a nutrição desportiva no futuro (Spano, 2010).

Alguns dos ingredientes futuros neste segmento de bebidas funcionais são: as proteínas, principalmente as PSL; a coenzima Q10, que desempenha um papel fundamental na energia e resistência; como verificado no estudo de Mizuno *et al.* (2008). A carnitina é outro exemplo, que segundo vários estudos e a revisão de Karlic e Lohninger (2004) reduz o stress oxidativo facilitando a recuperação. Já a carnosina, como é indicado por Begum *et al.* (2005) apresenta – se como um antioxidante versátil e eficiente tampão intramuscular, que promove uma função cardíaca saudável e forte e contribui para a cicatrização de ferimentos e recuperação de lesões. Outros ingredientes que parecem ter efeitos benéficos para esta área são a creatinina; os antioxidantes e também o leite e a beterraba. Estes dois últimos ingredientes ainda se encontram em estudo para comprovar a sua eficiência na melhoria da performance desportiva, e os suplementos de creatinina apesar de benéficos para a performance desportiva, apresentam algum risco mutagénico, como é indicado no artigo publicado por Brudnak *et al.* (2004) (Brudnak *et al.*, 2004; Daniells, 2010a; Karlic e Lohninger, 2004; Mizuno *et al.*, 2008).

Além das várias tendências já referidas, outra grande mudança tem vindo a ocorrer no mercado da nutrição desportiva. Um grupo distinto e inesperado de consumidores tem emergido, como principal motor para este mercado. Este é formado por pessoas que não estão necessariamente interessados em desporto (Heller, 2010).

De acordo com Richard Parker, analista sénior do *Datamonitor*, os consumidores de produtos de nutrição desportiva podem ser divididos em quatro grupos principais: os fisiculturistas, os atletas, os usuários recreacionais (que encaram o desporto como um passatempo) e os *lifestyle users*

(usuários de estilo de vida). “Os *lifestyle users*, não são necessariamente muito atléticos, mas optam por consumir produtos nutricionais desportivos como um bloco de construção inicial para levarem uma vida saudável”, segundo Richard Parker (Heller, 2010).

Ainda segundo Richard Parker “Os *lifestyle users*, consomem principalmente os produtos de nutrição desportiva, a fim de obterem uma bebida refrescante, um substituto de refeição rápido ou simplesmente um lanche saudável. Estes consumidores também podem usar os produtos de nutrição desportiva para obterem energia adicional durante períodos de doença, ou quando se sentem cansados.” Assim “As formulações de produtos que atendem às suas necessidades [dos *lifestyle users*] (...) é crucial. Eles [*lifestyle users*] querem sentir que estão envolvidos em práticas saudáveis através do consumo, assim os produtos devem ser posicionados como saborosos e indulgentemente saudáveis.” (Heller, 2010).

Com o aumento dos *lifestyle users*, os produtores deste segmento estão a produzir produtos “mais suaves” (por exemplo com menos proteína) e mais direccionados para este grupo de consumidores (Daniells, 2010b).

3.3. Bebidas desportivas enriquecidas com proteínas de soro de leite

Como resposta à tendência *nutrient timing*, as PSL têm ganho bastante importância no segmento das bebidas desportivas. Os atletas recorrem cada vez mais a bebidas que para além de glúcidos e electrólitos contêm proteína, de modo a melhorar o desempenho desportivo, reduzir as lesões musculares e melhorar a recuperação após o exercício (Cepero *et al.*, 2010).

Actualmente, as PSL's e suplementos de aminoácidos têm assim uma forte posição no mercado de nutrição desportiva, sendo que as bebidas desportivas com proteína compõem uma parcela considerável e crescente do mercado de alimentos funcionais (Beecher, 2006).

Acresce que também existem numerosas bebidas com o objectivo de melhorar a performance física no mercado que usam PSL's. Um exemplo é a “*WheyUP*”, que é uma bebida desportiva, que fornece 20g de isolado de proteína de soro (IPS) numa fórmula energética, tendo como alvo indivíduos com consciência da sua saúde sendo “ideal para beber antes e durante o exercício – físico para fornecer combustível ao corpo”. O “*Accelerade Advanced Sports Drink*” fornece 15g de IPS em cada dose. De acordo com as companhias de bebidas desportivas, as bebidas de proteína pronta-a-beber, quando consumidas durante o exercício, “facilitam a rehidratação, minimizam a quebra dos músculos que ocorre durante os exercícios de esforço e velocidade melhorando o processo de recuperação” (Burrington, 2009).

As PSL são consideradas proteínas de elevada qualidade, tendo um elevado valor biológico e eficiência proteica em relação a qualquer proteína, contendo ainda todos os aminoácidos essenciais necessários ao corpo para uma óptima saúde (Burrington, 2009).

Além disso, várias investigações recentes têm relatado uma redução na lesão muscular, uma atenuação da diminuição da força, e uma recuperação reforçada após exercícios de resistência em indivíduos que utilizam proteínas e/ou suplementos de aminoácidos (Cepero *et al.*, 2010). Estudos recentes (Howarth *et al.*, 2009; Tang *et al.*, 2007) têm ainda indicado que o consumo de bebidas que contêm PSL e glícidos durante e após o exercício reduzem o tempo de fadiga muscular.

Vários estudos têm explorado os benefícios da ingestão de bebidas que combinam glícidos com PSL's em indivíduos que praticam actividades desportivas (Nilson *et al.*, 2007; Tang *et al.*, 2007; Betts *et al.*, 2009; Howarth *et al.*, 2009; Tang *et al.*, 2009; Cepero *et al.*, 2010; McCleave *et al.*, 2011), sendo que a maior parte chega à conclusão de que uma dose mínima de PSL (10g) e de glícidos é suficiente para estimular a síntese de proteínas em relação às bebidas desportivas tradicionais com 6% glícidos.

A incorporação de PSL em bebidas é o método ideal para atingir grupos-alvo de consumidores à procura de benefícios específicos (outra das tendências no segmento das bebidas desportivas). O principal consumidor - alvo é sem dúvida, os indivíduos activos que pretendem tirar o máximo proveito do exercício físico e experimentar menor cansaço muscular após o exercício (Koski, 2010).

A população idosa é outro alvo deste tipo de bebidas. Actualmente, os idosos pretendem manter – se mais activos e saudáveis, e estudos têm demonstrado que a ingestão de PSL's permite uma maior manutenção da massa muscular e uma diminuição da perda da força em idosos. Aliás, segundo Katsanos *et al.* (2008) a acumulação muscular de proteínas é maior em idosos após a ingestão de 15 g de PSL (Koski, 2010; Katsanos *et al.*, 2008).

Outro alvo potencial é o das mulheres jovens e activas que pretendem obter resultados o mais rapidamente possível do exercício físico de modo a perder peso, tonificar e definir os músculos e diminuir o tamanho de roupa usado (Koski, 2010).

Recentemente, surgiram evidências quanto ao consumo de bebidas mistas de glícidos e proteínas durante o exercício que interessam bastante a este segmento de mercado. McCleave *et al.*, (2011) demonstrou que a performance desportiva de jovens atletas melhorou aquando do consumo de uma bebida de glícidos e PSL's com menos 50% de glícidos e aproximadamente menos 30% de calorias que as bebidas desportivas tradicionais (6 – 8% de glícidos). Esta descoberta é de especial relevância, pois permitirá desenvolver bebidas desportivas com menor teor calórico e que apresentam os mesmos efeitos benéficos, atingindo consumidores, que como a maioria das mulheres, se preocupam com o peso corporal (McCleave *et al.*, 2011).

3.3.1. Características dos diferentes produtos de proteínas de soro de leite

O soro é a fracção líquida do leite que permanece após a remoção da gordura e caseína durante a fabricação de queijo. O soro líquido contém aproximadamente 20% da proteína do leite original, e alguns lípidos, sais minerais e lactose. O termo "proteínas de soro de leite" aplica-se à proteínas do leite que permanecem solúveis em leite em pH 4,6 e 20 ° C. A fracção proteica do soro de leite é composta por numerosas proteínas, sendo que as seis maiores categorias são: a β -lactoglobulina (35%); a α -lactoalbumina (12%); o glicomacropéptido (12%); a protease peptona (12%); as imunoglobulinas (8%) e a albumina sérica bovina (5%). Para além disso, possui proteínas como a lactoferrina (1%), a lactoperoxidase (0,5%) e outras proteínas menores (15%) (Beecher, 2006; Snyder e Haub, 2007).

Historicamente, o soro foi considerado um desperdício ou subproduto, sendo eliminado ou transformado em produtos de valor relativamente baixo, tais como soro em pó. Na tentativa de eliminar o soro de leite, os produtores de queijo recorriam a estratégias muito pouco sustentáveis e ambientalmente incorrectas como, descarga do soro em rios, lagos ou oceanos, apesar do elevado potencial poluente do soro, ou realizavam descargas para o sistema de esgoto municipal. Uma outra alternativa, era a venda do soro de leite, com um baixo retorno económico, como ração animal (Smithers, 2008; Walzem, 2002).

Actualmente, essa visão tem mudado radicalmente devido ao crescente número de aplicações técnicas e nutricionais que têm surgido para o soro ou componentes de soro de leite. Assim, hoje em dia, o soro é considerado uma boa fonte de proteína e é vulgarmente transformado em proteína em pó e em muitos outros produtos. Aliás, o soro é agora considerado um co-produto da fabricação de queijos (Smithers, 2008; Walzem, 2002).

Hoje em dia, estão disponíveis comercialmente, concentrados de proteína de soro [variando 80 – 95% proteína (CPS)], soro de lactose reduzida, isolado de proteínas de soro (IPS), soro desmineralizado e hidrolisado de proteínas de soro (HPS). Cada produto de soro de leite varia na quantidade de proteínas, glícidos, imunoglobulinas, lactose, sais minerais e gordura no produto acabado. Essas variáveis são factores importantes na selecção das fracções de soro de leite para aplicações específicas em termos nutricionais e funcionais. A Tabela 3.12 descreve os vários produtos de proteínas de soro disponíveis (Marshall, 2004).

É graças aos avanços na tecnologia de processamento, que se tem verificado o desenvolvimento de diferentes produtos de soro de leite. Os pesquisadores têm desenvolvido processos que permitem separar e purificar as proteínas do soro mantendo a actividade biológica das fracções proteicas na sua forma nativa. Entre os principais processos estão a precipitação selectiva, a filtração por membranas (ultrafiltração e microfiltração), a adsorção selectiva, e a eluição selectiva (cromatografia de troca iónica) (Snyder e Haub, 2007).

Tabela 3.12 - Formas das proteínas de soro de leite disponíveis comercialmente (Adaptada de Marshall, 2004)

Descrição do produto	Concentração proteica	Conteúdo em gordura, lactose e minerais
<i>Isolado de proteínas de soro de leite</i>	90-95%	Pouco ou nenhum
<i>Concentrado de proteínas de soro de leite</i>	25-89% (Geralmente 80%)	Alguma gordura, lactose e minerais ^{*1}
<i>Hidrolisado de proteínas de soro de leite</i> ^{*2}	Variável	Varia com a concentração de proteínas
<i>Concentrado de soro de leite não – desnaturado</i> ^{*3}	Variável (25-89%)	Alguma gordura, lactose e minerais ^{*1}

^{*1} À medida que a concentração proteica aumenta, o conteúdo em gordura, lactose e minerais diminui.

^{*2} A hidrólise é utilizada para quebrar as ligações peptídicas, pelo que as grandes proteínas são transformadas em pequenas fracções peptídicas. É de salientar que a hidrólise reduz as reacções alérgicas.

^{*3} Processado para preservar a estrutura proteica nativa; tipicamente tem grandes quantidades de imunoglobulinas e lactoferrina.

Os procedimentos de filtração por membrana são separadas em duas subcategorias: a ultrafiltração e a microfiltração de fluxo cruzado (MFC). Estes procedimentos permitem separar as proteínas do soro pela massa molecular (tipicamente 5000-1000 g/mol) e são usados para produzir CPS e IPS. No entanto, este processo não permite separar totalmente a lactose e a gordura, pelo que o concentrado obtido por estes métodos possuem níveis mais elevados destes dois macronutrientes. Normalmente, este método permite que a maioria das proteínas permaneçam na sua forma nativa e na frequência original verificada no soro de leite não processado (Snyder e Haub, 2007).

A absorção selectiva é um processo utilizado para separar um tipo de proteína da mistura de PSL's, deixando as outras proteínas em solução. Contudo, ainda não é amplamente aplicado aos produtos disponíveis no mercado. Mas com as recentes descobertas dos benefícios de saúde associados a algumas das subfracções proteicas, começa – se já a ver disponível subfracções de PSL's em pó, como de glicomacropéptido bastante associado a saciedade e à perda de peso (Snyder e Haub, 2007).

A eluição selectiva, também conhecida como cromatografia de troca iónica (CTI), é o processo mais utilizado para fazer IPS's. Usando a eluição selectiva, a solução de PSL é aplicada numa coluna de troca iónica, de modo a que todas as proteínas se liguem à coluna. A coluna é então lavada e as proteínas individuais vão iludindo uma por uma produzindo uma mistura de PSL's altamente purificada. Este processo pode ser usado tanto para concentrar como para fraccionar as proteínas. Se feito com cuidado, a estrutura das proteínas nativas pode ser mantida. No entanto, alguns dos péptidos menores, como a lactoferrina podem ter uma diminuição de concentração, enquanto que a fracção de β -lactoglobulina tende a aumentar nos IPS's (Snyder e Haub, 2007).

3.3.2. Benefícios das proteínas de soro de leite

O soro contém uma grande quantidade de proteínas e péptidos biologicamente activos. Além das principais proteínas do soro de leite β -lactoglobulina, α -lactoalbumina, e glicomacropéptido, o soro de leite contém uma série de outras proteínas com potencial bioactividade. Todas as PSL têm, no mínimo, sido implicadas em efeitos nutricionais e fisiológicos, como (i) no desempenho físico, na recuperação após o exercício, e prevenção da atrofia muscular; (ii) na saciedade e controlo de peso; (iii) na saúde cardiovascular; (iv) efeitos anti-cancerígenos; (v) no tratamento de feridas e reparação; (vi) no controlo de infecções, (vii) na nutrição infantil; e (viii) no envelhecimento (Smithers, 2008).

Porém, uma das áreas em que as PSL's têm ganho grande destaque é na nutrição desportiva, incluindo aplicações em produtos como barras energéticas, suplementos nutricionais e bebidas desportivas. Alguns dos benefícios associados às PSL com interesse para esta área encontram – se resumidos no último documento de opinião científica da EFSA relativo às alegações de saúde associadas às PSL's, assim como às doses associadas (Tabela 3.13).

Tabela 3.13 - Alegações de saúde associadas as proteínas de soro de leite e as respectivas condições de uso (Adaptado de EFSA, 2010).

Alegação de saúde	Descrição da alegação	Condições de uso ^{*1}	% equivalente numa bebida de 500 mL
<i>Aumenta a saciedade</i>	Aumenta a saciedade principalmente por redução da ingestão energética	48 g de proteína por dose	9,6%
<i>Promove a síntese proteica quando ingerido após exercício de resistência</i>	Aumenta ou mantém a massa muscular	20 g de proteína de soro após o exercício	4%
<i>Suporta um aumento da massa muscular quando combinado com exercício e dieta hipercalórica</i>	Aumenta ou mantém a massa muscular	0,7 g de proteína de soro/kg/dia	9,8% ^{*2}
<i>Suporta um ganho de massa corporal magra durante períodos de restrição energética</i>	Aumenta a massa muscular durante uma restrição de energia e treino de resistência	0,7 g de proteína de soro/kg/dia	9,8% ^{*2}
<i>Suporta uma diminuição na gordura corporal quando combinado com exercício e dieta hipercalórica</i>	Redução da gordura corporal durante um período de restrição energética e treino de resistência	20 g de proteína de soro após o exercício	4%
<i>Força muscular</i>	Aumenta a força muscular	1,2 g de proteína de soro/kg/dia	16,8% ^{*2}
<i>Performance física</i>	Aumento a capacidade de resistência durante sessões de exercício subsequentes após exercício extenuante	10 - 30 g de proteína por dose	2%-6%
<i>Recuperação da fadiga muscular</i>	Recuperação rápida da fadiga muscular depois do exercício	10 g de proteína por dose	2%

^{*1} Devem atender aos requisitos mínimos para o uso da alegação "Fonte de proteína", segundo o anexo do Regulamento 1924/2006.

^{*2} Dose calculada para um indivíduo de peso corporal de 70 kg.

É ainda de salientar, que uma quantidade cada vez maior de pesquisas sugere que os concentrados de soro de leite (CPS 80) e os isolados (IPS) são ideais para pessoas que praticam exercício físico regular. O CPS 80 e o IPS não só fornecem uma fonte pura de proteínas de alta qualidade, como possuem uma quantidade mínima de gordura, glícidos e lactose (Cribb *et al.*, 2005).

Em comparação com outras fontes de proteína, as PSL's fornecem uma proteína de elevada qualidade, que cumpre os principais critérios que as proteínas ideais para desportistas devem possuir: (i) Um bom equilíbrio entre aminoácidos essenciais (AAE's) e não essenciais (AANE's); (ii) Uma fonte abundante de aminoácidos de cadeia ramificada (AACR's) e (iii) Pobres em gordura e colesterol. Além disso, apresentam uma classificação de PDCAAS (Protein Digestibility Corrected Amino Acid Score pontuação) de 1,14, excedendo a classificação das proteínas de soja (1,00). O método de PDCAAS mede a qualidade da proteína com base nas necessidades de AA's do organismo, com base em critérios como a composição aproximada em azoto, o perfil de AAE's e a verdadeira digestibilidade, sendo que uma proteína ideal que cumpre todos os requisitos apresenta uma classificação de 1,00 (Pasin e Miller, 2000).

A PSL apresenta ainda a vantagem de ser uma proteína de elevada digestibilidade e rápida absorção, devido em parte ao facto de ser solúvel em solução. Enquanto que por exemplo, a caseína é absorvida muito lentamente, tendo tendência a coagular no estômago e retardar o esvaziamento gástrico (Snyder e Haub, 2007).

As PSL's são assim ideais para os desportistas, porque graças a sua composição em AA's e elevada digestibilidade, são mais eficientes na estimulação da síntese protéica e na minimização da degradação protéica, o que conduz a benefícios como uma recuperação mais eficiente e melhor performance física. Assim, as características que fazem do CPS 80 e/ou IPS ideais no âmbito da nutrição desportiva são, resumidamente:

- Proteína de elevada qualidade e facilmente digestível;
- Fonte rica de AAE's;
- Contém elevados níveis de AACR's: leucina, isoleucina e valina;
- Boa fonte de aminoácidos sulfurados (AAS's) como a cisteína e a metionina;
- Elevados níveis de arginina e lisina;
- Contêm glutamina;
- Excelente fonte de cálcio biodisponível (Pasin e Miller, 2000).

O perfil aminoacídico das PSL é quase idêntico ao do musculo esquelético. As PSL fornecem todos os AA's necessários à síntese muscular - esquelética de proteínas e como são uma fonte rica de AAE's estimulam uma taxa elevada de síntese protéica. Para além disso, como são ricas em AACR's, são conhecidos por desempenharem um papel central no metabolismo muscular ao servirem como precursores directos para a produção de energia muscular durante o exercício físico. Através desta acção ajudam a aumentar a biodisponibilidade dos glícidos (melhoram o controlo

glicémico), retardam a fadiga muscular e combatem a degradação da síntese protéica (protegem contra a perda de proteína muscular) (Pasin e Miller, 2000; Cribb *et al.*, 2005).

Os AACR's são degradados nas células do músculo esquelético libertando azoto, que combina-se com o piruvato para formar o aminoácido alanina. O fígado remove o azoto da alanina de modo a produzir glucose como fonte de energia. A taxa de oxidação de AA's, principalmente de AACR's, pode fornecer 10 – 15% da energia total necessária durante o exercício (Pasin e Miller, 2000; Cribb *et al.*, 2005).

A diminuição da degradação protéica muscular resultante da acção metabólica dos AACR's promove uma melhor recuperação e regeneração tecidual, que permite aos atletas treinar mais intensamente e/ou por maiores períodos de tempo (Pasin e Miller, 2000).

Pensa-se que a ingestão de AACR's retarda a fadiga muscular. A hipótese que explica este mecanismo é que o aumento das concentrações de serotonina 5-HT cerebral, cujo precursor é o aminoácido triptofano, pode prejudicar a função do sistema nervoso central durante o exercício. Dado o triptofano livre (L-TRP) e os AACR's co-partilharem o transporte através da barreira hemato-encefálica, propõe-se que a diminuição da proporção L-TRP/BCAA reduz a fadiga. A proporção relativa L-TRP/BCAA aumenta à medida que a concentração de 5-HT cerebral aumenta, pelo que uma maneira de mudar esta relação é aumentar a quantidade de AACR's no sangue. Em teoria, quanto maiores os níveis circulantes de AACR's, menor a quantidade de triptofano para atravessar a barreira hemato-encefálica (Pasin e Miller, 2000).

Além disso, a alta concentração do AACR leucina na proteína de soro (10-14g por 100g) é de particular interesse. A leucina tem um papel distinto no metabolismo das proteínas, tendo um papel chave na via de iniciação da tradução de síntese de proteína muscular. Esta está envolvida na fosforilação reversível das proteínas que controlam a ligação do mRNA à subunidade ribossomal 40S. Uma oferta abundante de leucina no músculo após o exercício pode promover uma recuperação mais eficiente a nível molecular, acelerando o processo de adaptação ao treino físico (Cribb *et al.*, 2005; Haa e Zemelb, 2003).

Adicionalmente, os AACR's são necessários para a síntese muscular do aminoácido glutamina, que é o combustível essencial ao sistema imunológico, replicação celular e muitas outras funções indispensáveis. O glutamato é também utilizado para sintetizar a glutamina e é fornecido também pelas PSL, embora em menor proporção (Cribb *et al.*, 2005).

Há evidências que sugerem que em períodos de stress metabólico intenso, como o treino físico se pode exceder a capacidade do corpo para sintetizar glutamina, o que pode levar a uma função imune prejudicada, doenças recorrentes, infecções e performance pobre prolongada. Além disso, como a glutamina actua como reserva energética para as células em divisão, qualquer sinal de escassez deste AA pode significar uma redução do crescimento muscular e um aumento da degradação muscular, o que significa uma maior fadiga para o atleta (Cribb *et al.*, 2005).

As PSL's são também ricas em arginina e lisina, que são AA's que estimulam, possivelmente, a hormona de crescimento (HC). A HC é uma hormona anabólica ou estimuladora do crescimento muscular. As PSL's são uma alternativa natural aos esteróides anabólicos – androgénicos empregues pelos fisiculturistas (Pasin e Miller, 2000).

O CPS 80 e/ou IPS são ainda uma fonte rica de cisteína. Um suprimento adequado de cisteína é essencial para a preservação de tecido corporal magra (músculo), particularmente durante o exercício. Além disso, impulsionar o aumento das reservas de cisteína no corpo, permite melhorar a capacidade antioxidante, reduzir o stress oxidativo e melhorar o desempenho físico (Cribb *et al.*, 2005).

A cisteína permite melhorar a capacidade antioxidante, porque possibilita a produção da glutatona (GSH). A GSH é a peça central do sistema antioxidante e de defesa imunológica do organismo. A concentração de GSH nas células regula diversas facetas da função imune e habilidade do corpo para manter a saúde e evitar doenças. Os estudos em animais e humanos têm mostrado que em comparação com outras fontes de proteína, as PSL's são exclusivas na sua habilidade de aumentar a produção de GSH, otimizando vários aspectos da função imunológica (Cribb *et al.*, 2005).

Existem algumas variações na composição de aminoácidos, dependendo da origem e do processamento da proteína. Diferentes processos produzem PSL's com diferentes conteúdos em AACR's e AAE's. Na tabela 3.14 é apresentado o perfil aminoácídico aproximado de alguns tipos de PSL's disponíveis no mercado.

Por último, os glicomacropéptidos são proteínas biologicamente activas com efeitos benéficos para os desportistas, uma vez que são “reguladores da digestão”. Os glicomacropéptidos são conhecidos por estimularem a síntese e a libertação de colecistoquinina no corpo. A colecistoquinina desempenha um papel na regulação das funções digestivas como supressor do apetite. Outras funções ligadas aos glicomacropéptidos incluem factores de crescimento para as bactérias *bifidus* no intestino, actividade antiviral, modulação da digestão e melhoria da absorção de cálcio e propriedades antibacterianas, além de permitir uma melhoria do sistema imunológico (Pasin e Miller, 2000).

Outra área de crescente aplicação das PSL's é a de saciedade/ perda de peso. As tendências de mercado indicam um aumento exponencial para as bebidas que utilizam as PSL's e que têm como objectivo substituir refeições; reduzir o apetite; aumentar a saciedade e/ou aumentar a perda de peso. Vários estudos recentes têm explorado os benefícios da ingestão de PSL's relativamente a esta área (Frestedt *et al.*, 2008; Bertenshaw *et al.*, 2009; Chung Chun Lam *et al.*, 2009; Aldricha *et al.*, 2011; Poppitt *et al.*, 2011) e também a patologias associadas ao excesso de peso como a diabetes (Frid *et al.*, 2005) e o controlo da pressão arterial (Fluegel *et al.*, 2010).

Tabela 3.14 - Perfil de aminoácidos aproximado de algumas PSL's disponíveis comercialmente (g/100g de proteínas) (Adaptado de USDEC, 2005).

Aminoácido	CPS 80	IPS obtido por CTI	IPS obtido por MFC
Alanina	4,82	5,60	5,60
Arginina*	3,18	3,00	1,70
Ácido aspártico	12,26	12,30	12,70
Cisteína	2,28	1,90	2,50
Ácido glutâmico	15,41	17,70	19,70
Glicina	2,00	1,90	2,00
Hítidina*	2,41	2,00	1,80
Isoleucina* ^H	6,41	5,40	6,80
Leucina* ^H	11,60	13,50	10,90
Lisina*	9,83	10,90	9,50
Metionina*	2,35	3,50	3,10
Fenilalanina*	3,56	3,40	2,50
Prolina	6,28	4,80	6,30
Serina	6,24	4,50	5,30
Treonina*	8,44	5,30	8,30
Triptofano*	1,80	1,50	2,00
Tirosina	3,26	3,90	3,10
Valina* ^H	6,09	5,40	6,40
Total de AACR's ^H	24,10	24,30	24,10
Total de AAE's*	55,67	53,90	53,00

*Aminoácido essencial (AAE)

^H Aminoácido de cadeia lateral ramificada (AACR)

3.3.3. Formulação de bebidas com proteínas de soro de leite

Os produtos, como as bebidas desportivas, que usam PSL's como fonte de proteínas são projectadas para serem atraentes para uma variedade de mercados dado as proteínas de alta qualidade que oferecem. As bebidas contendo PSL's, como já foi referido, podem ser classificadas pelo pH podendo ser ácidas (pH < 3,5) ou de pH neutro (pH ~ 6,8). (Beecher, 2008).

A incorporação de IPS em bebidas ácidas é visto como uma forma atraente para atender às demandas dos consumidores por conveniência, nutrição e bom sabor. No entanto, existem factores que podem comprometer a aceitação pelo consumidor deste tipo de bebidas (Andrewes *et al.*, 2011).

As bebidas ácidas de PSL têm vantagens sobre as bebidas de PSL de pH neutro incluindo a maior clareza, a redução dos requisitos de processamento térmico, e maior vida útil de armazenamento. A desvantagem do pH baixo é que ele pode aumentar adstringência e a

necessidade de açúcar. Bebidas – modelo que continham as PSL foram percebidos como sendo 7,3 vezes mais adstringentes a pH 3,4 que a pH 6,8 por uma equipa de provadores treinada. Além disso, há um equilíbrio entre a doçura e a acidez em que as bebidas mais ácidas requerem mais adoçante. O aumento do pH pode diminuir a adstringência e o açúcar necessário, mas também pode resultar em formação de turvação através da formação de agregados de proteína devido ao tratamento térmico. É de salientar que uma turvação < 40 NTU é considerada clara para o consumidor (Rittmanic e Burrington; Laclair e Etzel, 2009).

A solubilidade da PSL é influenciada pelo pH, temperatura e concentração. De acordo com vários autores, uma proteína normalmente tem menor solubilidade no ponto isoelétrico (pI), ou seja, aumentam as interações proteína - proteína, porque as forças electrostáticas das moléculas estão no mínimo e menos água interage com as moléculas de proteína. Esta é uma condição favorável para moléculas de proteína se aproximem umas das outras e agreguem, e, possivelmente, precipitem. A um valor de pH muito abaixo do valor pI, as proteínas do soro são altamente solúveis devido à repulsão electrostática entre as moléculas com carga positiva. No entanto, à medida que o pH se aproxima do pI, as interações repulsivas diminuem e a agregação é mais provável de ocorrer. Em geral, as proteínas do soro são as menos solúveis em pH 4,5 - 5,2, com um aumento na solubilidade para valores de pH ácidos e alcalinos (Pelegri e Gasparetto, 2005; Laclair e Etzel, 2009; Martini *et al.*, 2010).

Além disso, normalmente há uma diminuição na solubilidade de proteínas do soro, com o aumento da temperatura. Pesquisas anteriores mostraram que em pH neutro, há uma redução de 22% na solubilidade a 60 °C em comparação a 40 °C. Em geral, a solubilidade de proteínas aumenta com a temperatura entre 40°C e 50°C. As proteínas são desnaturadas pelo efeito da temperatura sobre as ligações não covalentes envolvidas na estabilização da estrutura secundária e terciária, por exemplo ligações de hidrogénio, hidrofóbicas e electrostáticas. Quando as estruturas secundárias e terciárias se desdobram, os grupos hidrofóbicos (ex, os grupos sulfitos -SH inicialmente dentro da moléculas de proteína) interagem e reduzem a ligação da água, ocorrendo reacções de agregação. As caseínas não são significativamente afectadas pelo aquecimento grave, enquanto as PSL's são completamente desnaturadas a altas temperaturas em poucos minutos (Pelegri e Gasparetto, 2005; Martini *et al.*, 2010).

As bebidas lípidas que contêm PSL são actualmente formuladas a um pH > 3,5 com o objectivo de não se verificar sinais de turvação. Uma abordagem para evitar a turvação a pH > 3,5 é a selecção dos ingredientes para manter a turvação baixa após o tratamento térmico. A agregação pode ser inibida, quer por estabilização das proteínas contra a desnaturação, quer impedindo a agregação de proteínas já desnaturadas, pelo que se devem adicionar compostos que impeçam a desnaturação das proteínas e/ou a subsequente agregação das mesmas (Laclair e Etzel, 2010).

Laclair e Etzel (2010) encontraram uma correlação entre o peso molecular (PM) do açúcar e do álcool de açúcar e a redução observada na turvação, onde um menor PM resulta numa maior redução da turvação. A uma concentração de massa igual, os álcoois de açúcar com menor PM estão

presentes em maior concentração molar. A redução na turvação resulta da presença de uma maior concentração molar de moléculas menores. Os álcoois estabelecem interações com as cadeias laterais das proteínas que são possivelmente mais favoráveis do que as interações proteína - proteína, e portanto, o fenómeno de agregação de proteínas é reduzido (Laclair e Etzel, 2010).

Segundo Laclair e Etzel (2010), os sais aumentam a turvação em concentrações tão baixas quanto 10 mM. Sais como o cloreto de sódio, o cloreto de cálcio, o tiocianato de sódio e o sulfato de amónio aumentaram a turvação significativamente a pH 4,0. Este aumento foi atribuído ao efeito "salting out" que faz com que a solubilidade das proteínas diminua com a adição de sais. A desnaturação das proteínas faz com que ocorra a exposição dos resíduos de aminoácidos hidrofóbicos e agregação da proteína. O efeito dos sais é particularmente importante porque as bebidas desportivas são geralmente isosmóticas e as bebidas desportivas actualmente presentes no mercado contêm cerca de 110 mg de sódio a partir de citrato de sódio e 30 mg de potássio a partir de fosfato de potássio, por doses de 250 mL. Isto é equivalente a cerca de 7 mM de citrato de sódio e fosfato de potássio. Esta concentração provavelmente aumentaria a turvação das bebidas desportivas a pH 4,0, mas já não seria um problema a $\text{pH} \leq 3,6$, que por norma são os valores de pH das bebidas desportivas mais tradicionais (Laclair e Etzel, 2010).

A adição de aminoácidos também parece ter efeitos na turvação. Os aminoácidos prolina, glutamina e asparagina, reduzem significativamente a turvação, enquanto que a cisteína não teve efeitos significativos sobre a turvação após o tratamento térmico a pH 4,0 (Laclair e Etzel, 2010).

Outro desafio é que os processos utilizados durante a fabricação de IPS podem resultar na formação de proteína desnaturada e agregados que afectam a solubilidade do IPS. Roufik e outros (2005) descobriram que o IPS comercialmente disponível contém agregados de proteína insolúvel, que resultaram de danos durante a fabricação do IPS. A remoção de agregados de proteínas por centrifugação antes do processamento pode melhorar a adequação do IPS para aplicações em bebidas e segundo Laclair e Etzel (2010) esta abordagem permite reduzir a turvação significativamente após o aquecimento, sem alterar significativamente a concentração de proteínas. Este resultado foi atribuído à observação de que uma quantidade muito pequena de agregados de proteínas insolúveis causa um aumento muito grande na turvação (Laclair e Etzel, 2010).

Outro procedimento que diminui em cerca de 50% a turvação da solução após o tratamento térmico é a utilização de um tempo de hidratação adequado. O tempo de hidratação da PSL não deve ser inferior a 20 minutos para maximizar a estabilidade térmica e o tempo de prateleira da bebida final (Rittmanic e Burrington, 2006).

Apesar de a turvação ser uma preocupação menos presente durante a formulação de bebidas ácidas de PSL, estas têm-se mostrado adstringentes, o que pode limitar a sua aceitação pelo consumidor (Lee e Vickers, 2008).

A causa exacta da adstringência em bebidas ácidas de PSL é desconhecida. Em outros alimentos que são adstringentes como vinhos, chás, frutas e produtos à base de soja, a adstringência é atribuída aos compostos polifenólicos que eles contêm. Vários pesquisadores têm mostrado que os compostos polifenólicos ligam-se e precipitam proteínas salivares específicas, e tem sido sugerido que a perda destas proteínas da saliva diminui a capacidade da saliva para lubrificar a boca, o que é percebido como adstringência. A adstringência pode ser definida como a sensação de secagem da boca. Originalmente, foi pensado que a adstringência era um gosto básico, mas mais provas foram fornecidas para classificar adstringência como uma sensação táctil em vez de um gosto básico. A palavra adstringência vem da expressão latina "*ad stingere*", que significa "ligar" e está relacionada com a capacidade dos compostos adstringentes se ligarem e precipitarem as proteínas salivares (Lee e Vickers, 2008; Childs e Drake, 2010).

Existe algum conflito como o que provoca adstringência em bebidas acidificados de PSL's. Beecher *et al.* (2008) sugeriram que as PSL's com carga positiva se ligam e precipitam as proteínas salivares, o que resulta no paladar adstringente, enquanto Lee e Vickers (2008) sugeriram que a adstringência de bebidas de proteína de soro era devido apenas ao alto teor de ácido presente nas bebidas. Kelly *et al.* (2010) avaliaram recentemente as proteínas do soro em diferentes valores de pH tamponado e demonstraram através da avaliação sensorial e estudos *in vitro* com PSL e interações salivares que a adstringência era uma função da combinação de PSL e do teor de ácido e não do teor de ácido sozinho (Beecher *et al.*, 2008; Lee e Vickers, 2008; Childs e Drake, 2010; Kelly *et al.*, 2010).

É notável que à medida que a concentração de PSL numa bebida ácida é aumentada, a adstringência não aumenta. Por exemplo, Kelly *et al.* (2010) descobriram que adstringência atingiu um máximo em bebidas contendo 4-5% (m/m) de proteína, e não aumentou com maiores concentrações de proteína. Em contraste, a acidez e o sabor a papelão característico da PSL aumenta em proporção à concentração de proteína, enquanto diminui a aceitação do consumidor. As formulações de bebidas necessitam tomar em conta essas propriedades sensoriais (Andrewes *et al.*, 2010; Kelly *et al.*, 2010).

É essencial compreender as propriedades sensoriais da adstringência e as causas da adstringência em bebidas ácidas contendo PSL, de modo a obter uma melhor formulação de bebidas e assim maximizar a aceitação do consumidor do sabor da bebida em geral. E muito trabalho do realizado no tema da adstringência tem incidido sobre os mecanismos que causam a sensação de adstringência na boca, mas muito pouco tem sido feito para entender se esta é percebido como uma qualidade negativa em produtos alimentícios pelos consumidores. Muitos alimentos, particularmente bebidas, como café, chá e vinho tinto, são adstringentes. No caso das bebidas de PSL ácidas, a adstringência pode ou não ser um atributo aceitável(Andrewes *et al.*, 2010; Childs e Drake, 2010).

Num estudo efectuado por Childs e Drake (2010) verificou – se que muitos consumidores desconhecem a palavra adstringência, mas estão cientes do conceito de adstringência (secagem da boca) em bebidas. E quando bebidas ácidas de PSL idênticas foram provadas com e sem clipe nasal, o gosto do consumidor por estas bebidas foi mais reduzido, quando as bebidas foram provadas sem

clipe nasal do que quando saboreadas com o clipe nasal. Estes resultados sugerem que a aceitação do consumidor de bebidas ácidas e claras de PSL é mais afectada pelos sabores contribuídos pelo IPS em bebidas ácidas do que pela adstringência, embora ambos os factores desempenhem um papel na diminuição da aceitação de bebidas ácidas com elevado teor proteico. A adstringência presente em bebidas ácidas de proteína de soro pode ser censurável aos consumidores, mas em menor grau do que os sabores fornecidos pelo IPS (Childs e Drake, 2010).

Estudos recentes têm demonstrado que o sabor/aromas contribuídos pelas PSL em bebidas é um atributo fundamentalmente negativo. Segundo Russell *et al.*(2006) tal como as proteínas de soja, as PSL são caracterizadas por aromas/sabores como aroma doce, à papelão e à caldo. Estas propriedades foram encontradas através de uma análise descritiva das propriedades sensoriais das PSL e das proteína de soja. Neste estudo, as PSL (CPS 80 e IPS) também foram caracterizados pelos atributos sensoriais adicionais de metálico e sabão. Já as intensidades da adstringência não foram diferentes entre as proteínas de soja e de soro, nem houve diferenças consistentes entre os concentrados de proteínas e os isolados. Contudo, em geral os IPS's apresentaram intensidades mais baixas de sabor do que o CPS 80. Esta característica tem sido documentada em estudos anteriores e pode ser devido ao menor teor de gordura e glícidos do IPS, em comparação com o CPS 80 (menos fontes de componentes de sabor voláteis) (Russell *et al.*, 2006; Childs e Drake, 2010).

Os estudos em curso sobre passos de processamento de modo a minimizar os sabores contribuídos pelo IPS e/ou CPS 80 são cruciais para a aceitação generalizada do consumidor das bebidas com PSL (Childs e Drake, 2010).

Um importante factor também a ter em conta é que as PSL (CPS 80 e IPS) de diferentes fontes exibem perfis de sabor diferentes, independentemente da idade ou fonte de soro de leite. Whetstine *et al.*(2005) observaram variabilidade de sabor semelhante entre CPS 80 fresco e IPS e colocaram a hipótese de que as diferenças no processamento (armazenamento do soro de leite líquido, temperaturas do processo, etapas do processo) poderão contribuir para as diferenças de sabor nos produtos frescos (Whetstine *et al.*, 2005; Russel *et al.*, 2006).

O processo de formulação e produção da bebida de PSL deve ser validado, definível e repetível, pelo que deve ser dada especial atenção à temperatura, aos procedimentos de mistura, a ordem de adição dos ingredientes, em particular dos acidulantes, o método de ajuste de pH e claro ao tratamento térmico utilizado para pasteurizar a bebida (Rittmanic e Burrington, 2006).

O primeiro passo é geralmente a rehidratação da proteína em pó. Este passo muitas vezes leva a numerosos problemas em termos de tempo necessário e formação de espuma. Recomenda-se a mistura do ingrediente de PSL em misturadores de alta velocidade para permitir a hidratação em cerca de metade da água utilizada na formulação a temperaturas inferiores a 38 °C, com agitação lenta. Os ingredientes de PSL podem ser misturados com açúcares e outros ingredientes secos durante a etapa de hidratação. O tempo de hidratação não deve ser inferior a 20 minutos para

maximizar a estabilidade térmica e estabilidade durante o tempo de prateleira da bebida (Rittmanic e Burrington, 2006).

Outro aspecto importante é a minimização da incorporação de ar durante todas as etapas do processamento. A formação de espuma em excesso pode levar à floculação, quando a bebida é tratada termicamente e no caso de bebidas estáveis, pode ocorrer alguma sinérese ou separação (Rittmanic e Burrington, 2006).

A ordem e a taxa de adição dos ingredientes também são importantes para o sucesso da produção da bebida, particularmente na etapa de acidificação. Geralmente a solução de proteína em torno de 6,5 passa para valores de pH iguais ou inferiores a 4,5. A PSL tem uma elevada capacidade de tamponamento, pelo que em formulações com altos níveis de proteína exigirão elevados níveis de ácido para ajustar o pH. Os ácidos mais comuns utilizados são: 1) Ácido fosfórico – ácido forte com pouco impacte no sabor; 2) Ácido clorídrico – ácido forte com palatabilidade pouco desejável, mas pode ser usado em produtos nutricionais, porque é o mesmo ácido encontrado no sistema gástrico; 3) Ácido cítrico - acidulante mais fraco, mas muito desejável pela sua contribuição para o perfil de sabor global de uma bebida com sabor de frutas. O ácido cítrico não é recomendado como o único acidulante para bebidas com concentrações mais altas de PSL, devido a elevada acidez transmitida quando utilizado em níveis elevados; 4) Ácido málico - ácido fraco semelhante ao ácido cítrico, mas útil como um suplemento para fórmulas com maçã ou sabores de frutas, devido à sua presença natural nessas frutas (Rittmanic e Burrington, 2006).

As bebidas ácidas de PSL geralmente experimentam uma diminuição do pH após o tratamento térmico. Esta diminuição do pH é provavelmente devido à/ao: 1) Fase inicial das reacções de escurecimento de Maillard; 2) Desdobramento das proteínas causando uma mudança na constante de dissociação de alguns grupos funcionais; 3) Agregação de proteínas que altera o estado dissociado. A mudança de pH que ocorre vai depender do nível de proteína utilizada. Por exemplo, se um pH final de 3,2 é desejado, para uma bebida contendo proteínas 5%, então é recomendado que a bebida seja ajustada para pH 3,3 - 3,35 antes do tratamento térmico (Rittmanic e Burrington, 2006).

3.4. Bebidas em pó e em pastilhas efervescentes

Actualmente, as questões de sustentabilidade e ambientalismo são de extrema importância para o consumidor. O desenvolvimento de pastilhas e pós efervescentes com ingredientes funcionais tem sido uma das respostas dos formuladores no sector de bebidas com ingredientes funcionais como as águas com vitaminas, as bebidas energéticas e bebidas desportivas. As bebidas funcionais são cada vez mais populares e este sistema permite reduzir o uso de embalagens de plástico e metal e de material de embalagem por dose em relação às bebidas terminadas (Montgomery, 2008).

Além da grande capacidade de um pacote conter grandes quantidades de ingredientes funcionais (até 2g em comprimidos e superior para pós), estes podem ser levados para qualquer lugar e permitem que o consumidor transforme qualquer líquido numa bebida funcional. Dado o maior enfoque na minimização do uso de plásticos e outros produtos baseados em petróleo, a dose efervescente permite ao consumidor obter os benefícios de uma bebida funcional sem ter que estar a comprar sempre uma garrafa nova (Montgomery, 2008).

Cada vez mais empresas estão a compreender os benefícios de conveniência, portabilidade e fácil-de-usar deste tipo de pacotes que proporcionam uma experiência positiva, refrescante e benéfica ao consumidor. Assim, a tendência de bebidas funcionais sob a forma de pó/pastilha efervescente só tem porque continuar a crescer no mercado de bebidas funcionais (Montgomery, 2008).

A arte de fazer bebidas efervescentes já remota ao século XIX. A primeira patente (U.S. Pat. No. 541,255) ocorreu em 1895, e descrevia a invenção de uma bebida efervescente, baseada na mistura de grânulos que contêm bicarbonato alcalino e separadamente, um ácido orgânico revestido com açúcar. Quando colocados na água, os grânulos tinham a aparência e o sabor do champanhe, e o efeito de efervescência apenas durava entre 10 a 30 minutos (Iacovone *et al.*, 2010).

Actualmente, os produtos efervescentes são produtos bastante conhecidos. Estes produtos recorrem à combinação de um ácido comestível e um carbonato de sal que reagem (em água) originando dióxido de carbono. Estes produtos para além de poderem ser formulados com o objectivo de obter uma bebida funcional, são bastante utilizados para administração de medicamentos e suplementos dietéticos (Rau *et al.*, 2010).

As fórmulas efervescentes apresentam numerosas vantagens funcionais quando utilizadas para obter bebidas:

- a geração de dióxido de carbono ajuda a dispersar o produto uniformemente no recipiente da bebida (ou um copo ou uma garrafa de água comprada);
- a acção efervescente é interessante para os consumidores;
- a forma concentrada dos produtos elimina a necessidade de transportar água por distâncias grandes e minimiza a quantidade de embalagens necessárias;
- a natureza anidra do produto fornece um ambiente onde os materiais que possam ser susceptíveis a hidrólise possam ser estáveis (Rau *et al.*, 2010).

Os ácidos mais usados nesta reacção são o cítrico, o málico, o tartárico, e o fumárico. O ácido cítrico é o mais vulgarmente usado, conferindo um gosto cítrico aos produtos. O ácido málico pode ser usado em fórmulas efervescente para um sabor suave, mas o preço do ácido málico é mais elevado do que o do ácido cítrico. As bases tipicamente utilizadas na reacção efervescente são o bicarbonato de sódio, o bicarbonato de potássio, o carbonato de sódio e o carbonato de potássio. O bicarbonato de sódio é muito comum em fórmula efervescente e produz uma solução clara após a

desintegração do comprimido. Quando os níveis de sódio são uma preocupação, o bicarbonato de potássio é usado.

O tempo que um produto efervescente pode levar a dissolver é afectado por vários factores. Além do ambiente em que a fórmula é usada, existem outros factores-chave que são: a forma (grânulo comprimido, e em pó); o tamanho e a densidade, a dureza e a formulação em si (Rau *et al.*, 2010).

Os pós efervescente dissolvem-se muito rapidamente, geralmente dentro de alguns segundos. Eles reagem imediatamente, geralmente na superfície da água, às vezes fazem a água transbordar para fora do recipiente, especialmente quando adicionados a uma garrafa de água de gargalo estreito. Os produtos em pó são geralmente produzidos pela simples mistura dos componentes do pó (Rau *et al.*, 2010).

Tal como os pós, os produtos granulares efervescentes dissolvem - se muito rapidamente, geralmente em menos de 20-30 segundos. Os produtos granulares são mais difíceis (e caros) de fabricar que as misturas em pó. Normalmente o ácido e sal de carbonato são fisicamente "colados", utilizando um ligante comestível ou farmacologicamente aceitável, como polivinilpirrolidona, álcool polivinílico ou polietileno glicol. Estes tipos de grânulos são efectuados pelo processo genericamente conhecido como "granulação húmida". Os solventes como etanol e/ou álcool isopropílico são muitas vezes utilizados para auxiliar neste tipo de processo de granulação. Esses materiais precisam ser removidos dos grânulos, acrescentando mais um custo à produção. Uma vez que o conjunto ácido/carbonato efervescente está fisicamente unido num grânulo, a reacção de geração de gás é geralmente bastante vigorosa, levando à rápida dissolução já mencionada. Os grânulos efectuados pela técnica de granulação húmida tendem a ter baixa densidade (Rau *et al.*, 2010).

Outro tipo de "granulação húmida" específica para produtos efervescentes é conhecida como "fusão". Estes grânulos são formados pela reacção do ácido e carbonato com uma pequena quantidade de água (ou às vezes um álcool hidratado, como vários tipos comerciais de etanol ou álcool isopropílico) de uma maneira altamente controlada. Os grânulos de fusão tendem a ser bastante porosos, diminuindo a sua densidade e também o seu tempo de dissolução (Rau *et al.*, 2010).

As formulações em pastilhas dissolvem-se mais lentamente do que as formulações em pó ou grânulos. Esta baixa dissolução deve-se ao tamanho relativamente grande, baixa porosidade e alta densidade das pastilhas. A presença de lubrificantes nas formulações em pastilha (necessários para o processamento eficiente) também, em geral, impedem a dissolução. Entre os lubrificantes mais utilizados incluem-se o polietileno glicol, o benzoato de sódio, o estearato de magnésio, ácido esteárico, óleo vegetal, diversos pós de silicone, estearil fumarato de sódio e leucina. Muitos desses materiais tendem a ser hidrofóbicos e, portanto, podem impedir o acesso da água necessária para a reacção efervescente acontecer, atrasando ou estendendo a efervescência. As pastilhas efervescentes são formuladas com um peso de vai de 2 a 20 gramas (Rau *et al.*, 2010).

A estratégia mais eficiente, encontrada por Rau e outros (2010), para reduzir o tempo de dissolução de uma pastilha efervescente, foi produzir pequenas pastilhas (“mini - pastilhas”) ou grânulos densos que podem ser embalados em doses individuais (Rau *et al.*, 2010).

Outro problema de desenvolvimento de produtos efervescentes que se transformam em bebidas é o mantimento do valor de pH ao longo do tempo. Para resolução deste problema Iacovone e outros (2010) propuseram uma formulação em que a quantidade de bicarbonato é menor ou igual a maior quantidade de um ou outro ácido utilizado. Esta combinação em que se utiliza uma pequena quantidade de bicarbonato em relação ao ácido, assegura que o valor de pH não aumenta ao longo do tempo e que a maior acidez aumente a estabilidade da bebida (Iacovone *et al.*, 2010).

No trabalho referido em cima, o bicarbonato utilizado é bicarbonato de sódio e os ácidos utilizados são o ácido tartárico e ácido cítrico. A quantidade de bicarbonato é menor ou igual a 3%, já as quantidades utilizadas de ácido cítrico são iguais ou menores que 2,5% e as de ácido tartárico são iguais ou menores que 3% (Iacovone *et al.*, 2010).

IV. Conceito a desenvolver

1. Análise de mercado: Shopping

Em Portugal, o mercado da nutrição desportiva é pouco proeminente, apresentando ainda um baixo consumo por parte do consumidor comum. Apenas atletas e pessoas que se dedicam a actividades físicas extenuantes consomem este tipo de alimentos e bebidas funcionais.

As bebidas desportivas disponíveis em Portugal (Tabela 4.1), contêm entre 6 a 8% de glúcidos. As fontes de açúcares são distintas de bebida para bebida, e algumas possuem mais que uma fonte de açúcares na sua formulação. Quanto ao tipo e a quantidade de minerais utilizados também são perceptíveis numerosas diferenças.

No mercado, é ainda possível encontrar bebidas em pó e em pastilha que permitem aos desportistas preparem as bebidas no momento do consumo e na quantidade pretendida. O “*Isostar Long Energy Endurance*” (Figura 4.1) e o “*Isostar Fast Hydration*” (Figura 4.1) são exemplos deste tipo de produtos, respectivamente.



Figura 4.1 – Exemplos de bebidas desportivas: a)Bebidas isotónica em pó; b)Bebida isotónica em pastilhas (<http://www.isostar.uk.com>).

Foram efectuadas análises das características físico – químicas, segundo o procedimento da secção 2.5. do capítulo 5, de algumas das bebidas desportivas mais relevantes do mercado português, de modo a ter informações sobre os parâmetros físico – químicos destes refrigerantes. Na Tabela 4.2 estão indicados os valores de Brix, pH, acidez titulável e turvação de bebidas desportivas existentes em Portugal.

Os resultados das análises físico – químicas revelaram que o Brix destas bebidas não varia muito estando compreendido no intervalo de $7,34 \pm 0,48$ °B, assim como o pH e a acidez, também não variam muito, apresentando valores nos intervalos de $3,49 \pm 0,25$ e $0,360 \pm 0,05$ g/ 100 mL de ácido cítrico anidro, respectivamente. Já a turvação nestas bebidas é maior do que na maioria dos refrigerantes de pH ácido e apresenta maior variação nas bebidas analisadas. O intervalo de turvação

é de $47,82 \pm 16,24$ NTU. As bebidas desportivas, em Portugal, são bebidas de pH ácido e com um Brix inferior às categorias de refrigerantes mais comuns. Este menor valor de Brix é explicado pela menor concentração de açúcares empregue neste tipo de bebidas.

Quanto a bebidas desportivas enriquecidas com PSL's, a sua presença é mínima. Existe uma marca de bebida com proteína denominada "Weider Muscle Protein Drink", comercializada sob a forma de batido (pH neutro). Outra bebida, a "Isostar High Protein 9.0" (Figura 4.2. b), é uma bebida hiperproteica em pó, mas apesar de possuir açúcares não é isosmótica e apresenta pH neutro. A Isostar possui uma bebida isosmótica, que apesar de ser em pó, contém açúcares e proteína numa proporção de 6:1. e de pH ácido, que é a "Isostar Pro Total Performance" (Figura 4.2. c), contudo não se encontra disponível em Portugal. Em suma, bebidas enriquecidas com PSL's de pH ácido, isosmóticas e prontas – a – beber não existem no mercado de nutrição desportiva português.

Como já foi referido, quase não existem bebidas com proteínas e/ou PSL's em Portugal. Mas nos Estados Unidos da América, segundo um estudo de mercado realizado em 2006, por Beecher (2006), existem cerca de 18 bebidas fortificadas com PSL's. Das 18 bebidas, 11 são ácidas (pH médio = 3,3) e 7 são neutras (pH > 6,4). Das bebidas ácidas, o teor de proteína variou entre 4,2 e 7%, com uma média de 6%. A maioria das bebidas foram acidificadas com ácido fosfórico, e adoçadas com diferentes edulcorantes artificiais. Os resultados deste estudo de mercado encontram – se nas Tabelas 4.3 e 4.4.

Outro factor a ter em questão, é que quase todas as bebidas de valor de pH ácido são formuladas recorrendo ao IPS, como fonte de proteína. Este apresenta vantagens em relação ao CPS, porque para além de possuir maiores valores de concentração de proteína (90-95 %), contém menor teor em lípidos (>1%) e glícidos (>1%). Uma maior quantidade destes macronutrientes pode originar turvação, maus sabores/aromas, menor estabilidade da bebida e consequentemente menor tempo-de-prateleira.



Figura 4.2 – Exemplos de Bebidas desportivas com proteínas de soro de leite: a) Suplemento de Proteína de soro de leite; b) Bebida em pó com proteína de soro de leite; c) Bebida isotónica em pó enriquecida com soro de leite (<http://www.isostar.uk.com>).

Tabela 4.1 - Ingredientes, composição nutricional e preço das principais bebidas desportivas prontas-a-beber existentes em Portugal.

Composição Nutricional (100 mL)	Gatorade	Isostar	Powerade	Aquarius
Energia/Kcal	26	29	31	32
Sódio (mg)	50	70	50	24
Potássio (mg)	12	18	53	2,2
Magnésio (mg)	5	12	16	-
Cálcio (mg)	-	32	-	0,8
Açúcares (g)	6	6,2	7,5	7,9
Vitaminas	-	Vitamina B ₁	-	-
Tipos de Glícidos	Xarope de glucose-frutose; Sacarose.	Sacarose; Xarope de glucose; Maltodextrina.	Sacarose	Sacarose
Sabores	Limão Framboesa	Laranja Limão Frutos vermelhos	Ice Storm Citrus Charge	Laranja Limão
Volume (mL)	500	500	500	500 1000
Preços (€)	0,99	1,07	0,99	0,84 € (500 mL) 1,09 € (1 L)

Tabela 4.2 - Características físico - químicas de algumas bebidas desportivas existentes no mercado português.

Bebidas desportivas	Brix (°B)	pH	Acidez (g por 100 mL de ácido cítrico)	Turvação (NTU)
<i>Powerade Ice storm</i>	7,72	3,57	0,357	36,50
<i>Powerade Citrus Fresh</i>	7,76	3,54	0,365	42,30
<i>Isostar limão</i>	7,54	3,78	0,421	47,60
<i>Isostar laranja</i>	7,57	3,68	0,411	78,30
<i>Gatorade limão</i>	6,75	3,16	0,314	49,59
<i>Gatorade Blue</i>	6,71	3,21	0,300	32,70
Média	7,34 ± 0,48	3,49 ± 0,25	0,36 ± 0,05	47,82 ± 16,24

Tabela 4.3 - Valores de pH e de percentagem de proteína de bebidas ácidas fortificadas com proteínas de soro de leite, segundo um estudo de mercado (Adaptado de Beecher, 2006).

Bebidas Ácidas				
	Sabor	pH	% proteína	Fonte de proteína
1	Frutas tropicais	2,6	6,5%	IPS, CPS
2	Bagas	2,9	6,2%	IPS CTI
3	Uva	3,1	6,6%	IPS
4	Cítrico	3,2	4,5%	IPS
5	Tutti - Frutti	3,3	7,1%	IPS
6	Tutti - Frutti	3,4	6,4%	IPS CTI
7	Tutti - Frutti	3,4	6,4%	IPS e L – glutamina
8	Laranja	3,4	4,9%	IPS
9	Laranja	3,4	6,8%	IPS
10	Uva	3,5	6,8%	IPS, L - glutamina, L - leucina, L - isoleucina e L – valina
11	Limão - lima	3,7	4,2%	IPS
Média		3,3	6,0%	

Tabela 4.4 - Valores de pH e de percentagem de proteína de bebidas neutras fortificadas com proteínas de soro de leite, segundo um estudo de mercado (Adaptado de Beecher, 2006).

Bebidas Neutras				
	Sabor	pH	% proteína	Fonte de proteína
1	Baunilha	6,4	6,8%	Leite em pó desnatado; Caseinato de cálcio.
2	Morango	6,4	6,8%	Leite em pó desnatado; Caseinato de cálcio.
3	Baunilha	6,6	9,9%	IPS; Caseinato de cálcio.
4	Baunilha	6,7	8,5%	IPS
5	Baunilha	6,8	9,9%	IPS; Caseinato de cálcio; CPS.
6	Baunilha	6,8	4,5%	Isolado de proteínas de soja
7	Baunilha	6,9	6,1%	Isolado de proteínas de soja, IPS.
Média		6,7	7,5%	

2. Conceito

O desenvolvimento de um novo conceito deve envolver uma prévia identificação das necessidades do consumidor ou tendências de mercado, de modo a orientar ideias quanto ao produto a desenvolver. Idealmente o produto deve possuir características únicas que o destaquem dos restantes e que sejam atractivas para o consumidor (Ashurst e Hargitt, 2009).

Após a pesquisa de mercado e a revisão bibliográfica, a opção de bebida a formular foi um refrigerante que associasse as características tradicionais de uma bebida desportiva tradicional às características funcionais das PSL's.

Apesar do mercado de bebidas desportivas ser relativamente inexistente em Portugal, pensa-se que com a crescente preocupação do consumidor com a saúde e o “bem-estar”, as bebidas desportivas começarão a ser consumidas pelo consumidor comum. Ou seja, que este tipo de bebidas passará a ser consumido não só pelos atletas, mas também pelas pessoas que praticam desporto como passatempo e que se preocupam com a sua saúde, e pelas pessoas que apesar de não praticarem desporto procuram bebidas refrescantes, mais hidratantes e nutritivas.

A segmentação das bebidas desportivas, como já foi referido, é uma das estratégias para aumentar as vendas das bebidas desportivas, e as PSL permitem isso mesmo. Esta bebida terá assim, como público-alvo:

- Consumidores, que pretendem retirar o máximo de proveito do exercício físico;
- Consumidores, que pretendem uma recuperação mais rápida da fadiga muscular;
- Mulheres jovens e activas, que pretendem obter resultados rápidos ao praticar exercício;
- Idosos, que pretendem manter-se activos e saudáveis;
- Consumidor comum, que pretende uma bebida refrescante e mais saciante.

A apresentação de uma bebida de aspecto mais natural é outro dos propósitos. As bebidas desportivas tradicionais apresentam cores bastante artificiais e um aspecto turvo, mas com a tendência emergente das bebidas funcionais e de aspecto mais autêntico, o objectivo desta formulação é obter uma bebida que se encaixe também na terceira tendência emergente das bebidas desportivas (já mencionada). Ambiciona – se formular uma bebida que seja um cruzamento entre uma água funcional e uma bebida desportiva, pelo que não se recorrerá à utilização de corantes e tentar-se-á que a bebida não apresente turvação visível.

Claro que este tipo de posicionamento mais funcional e natural será conseguido em grande parte através do design e grafismo da embalagem e do rótulo. Efectuou – se duas opções de protótipo para o rótulo, em que num se colocou o perfil de uma mulher (no caso de se optar por uma segmentação para o público feminino) e noutra se colocou o perfil de um homem. Os protótipos foram desenvolvidos para os quatro sabores previstos para a bebida. As cores utilizadas nos protótipos foram cores suaves, com um grafismo de letra simples e cor preta (Figura 4.3.).



Figura 4.3 - Protótipos dos rótulos para a bebida com 2 % PSL.

Em síntese, a combinação de uma bebida isosmótica que aumenta a hidratação com os restantes benefícios da PSL é o objectivo da formulação da bebida a desenvolver neste trabalho.

Um aspecto importante a ter em conta é que os efeitos nutricionais e funcionais da bebida têm de ser atingidos. Segundo o *Report of the Scientific Committee on Food on composition and specification of food intended to meet the expenditure of intense muscular effort, especially for sportmen - Scientific Committee on food, 2001* (European Commission), a bebida desportiva deve fornecer como maior fonte de energia os glícidos e deve ser eficiente em manter ou restaurar a hidratação. E além disso deve possuir um valor calórico não menor que 80 kcal/L nem maior que 350 kcal/L; garantir que pelo menos 75% da energia é fornecida por glícidos metabolizáveis de elevado índice glicémico (sacarose, frutose, glucose, etc.); conter pelo menos 20 mmol/l (460 mg/l) de sódio (Na⁺) e não mais de 50 mmol/l (1150 mg/l) de sódio e ser formulada dentro do intervalo de

osmolalidade de 200 – 330 mOsm/kg água, sendo designada por isosmótica se estiver no intervalo de 300 mOsm +/- 10 % (270 - 330 mOsm/kg água) (European Commission, 2001).

Outro objectivo é garantir que a bebida é considerada um fonte de proteína, aliás que contém um “alto teor de proteína”, pelo que 20% do valor energético da bebida deve ser fornecido por proteína (Regulamento (CE) n.º 1924/2006).

Por fim, os benefícios nutricionais e funcionais da PSL devem ser assegurados. Na tabela 3.12. estão evidenciados as possíveis alegações nutricionais e as doses de PSL que as permite usar, segundo o documento de opinião científica da EFSA - *Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to whey protein (...) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006, 2010.*

A bebida a desenvolver será assim, uma bebida desportiva com 2% proteína (Tabela 4.5), que possui um “Alto teor em proteína” e que permite a recuperação da fadiga muscular e aumenta a performance física, segundo a opinião científica da EFSA. A população-alvo desta bebida será principalmente indivíduos activos.

De uma forma geral, as bebidas adequadas para desportistas necessitam conter uma concentração aproximadamente de 0.12% de sódio e de 6-8% de glícidos e estes valores são verificados na formulação da bebida de 2% proteína.

Pretende-se ainda desenvolver uma bebida com 5% de proteína (Tabela 4.6), de modo a possuir os benefícios acrescidos de aumentar ou manter a massa muscular e reduzir a gordura corporal durante períodos de dietas e de treino de resistência. A população-alvo desta bebida seriam indivíduos activos, mas principalmente adultos que se encontram em dieta e a praticar exercício de resistência de modo a diminuírem a sua gordura corporal.

Por último, tem – se por objectivo desenvolver um suplemento em pó que possa ser adicionado à bebida de 2% para obter a bebida de 5% proteína, de modo a que o consumidor possa optar por consumir uma bebida com menor ou maior conteúdo proteico.

Tabela 4.5 - Composição da bebida desportiva enriquecida com 2% proteína.

Bebida de 2% proteína		
Ingredientes	Composição Nutricional/100 mL de bebida	%Valor energético
<i>Glícidos</i>	6	75%
<i>Proteínas de soro de leite</i>	2	25%
<i>Cloreto de sódio</i>	0,12	-
Valor energético total	32 Kcal	100%

Tabela 4.6 - Composição da bebida enriquecida com 5% proteína.

Bebida de 5% proteína		
Ingredientes	Composição Nutricional/100 mL de bebida	%Valor energético
<i>Glícidos</i>	6	54,5%
<i>Proteínas de soro de leite</i>	5	45,5%
<i>Cloreto de sódio</i>	0,12	-
Valor energético total	40 Kcal	100%

Como se pretende desenvolver um refrigerante enriquecido com PSL, de aparência límpida e que sacie a sede rapidamente, o pH da bebida terá de ser inferior ao ponto isoelétrico da proteína (4,6). Geralmente, as bebidas de PSL prontas-a-beber devem possuir valores de pH inferiores a 3,5, pelo que as formulações serão efectuadas no intervalo de valores de pH de $3,0 \pm 0,2$.

Os sabores cítricos são considerados mais frescos e por sua vez mais saciadores da sede, por isso são empregues aromas como limão, laranja e tangerina. O aroma ananás-coco é testado, devido ao facto dos desportistas associarem o sabor a coco aos benefícios de hidratação natural associados à água de coco. Para além disso, por ser um aroma mais doce, pensa-se que poderá mascarar mais eficientemente os aromas/sabores indesejáveis das PSL's. Recorre-se ainda à aplicação de um aroma modulador (aroma de baunilha) para disfarçar a adstringência mais pronunciada em aromas mais cítricos como o de limão.

Num esforço para melhorar a eficácia da suplementação com PSL's, substitui-se a habitual fonte glícidos singular por uma mistura de açúcares. Os açúcares utilizados foram a sacarose (em solução desdobra - se em frutose e glucose) e a frutose. Múltiplas fontes de glícidos parecem aumentar as taxas de oxidação dos glícidos em relação a quando é utilizada apenas um fonte de glícidos. A taxa máxima de utilização de glícidos exógenos durante o exercício prolongado ao fornecer uma fonte única CHO é de cerca de $1,0 - 1,1 \text{ g}\cdot\text{min}^{-1}$. No entanto, a taxa de oxidação pode aumentar para $1,7 \text{ g}\cdot\text{min}^{-1}$ quando é ingerida uma combinação de glícidos durante o exercício. Além disso, estudos demonstraram que a combinação de múltiplas fontes de glícidos parece aumentar ainda mais a performance de resistência em relação à glucose apenas (McCleave *et al.*, 2011).

A suplementação de potássio, magnésio, de cloreto e de cálcio tem sido referida como benéfica, quando estes são adicionados a bebidas para ingestão no decurso e fim da actividade física. As perdas destes electrólitos não são significativas e normalmente são utilizados apenas para prevenção de deficiências, pelo que se considerou desnecessária a sua adição nesta formulação, uma vez que estes minerais são obtidos normalmente através de uma dieta equilibrada e a bebida já possui os benefícios acrescidos fornecidos pelas PSL's. Além disso, a adição dos sais minerais pode provocar fenómenos de *saltin*g out que fazem com que a solubilidade da proteína diminua. A desnaturação de proteínas faz com que ocorra a exposição dos resíduos de aminoácidos hidrofóbicos

e ocorra a agregação da proteína, diminuindo assim a estabilidade da bebida e aumentando a turvação desta. Contudo, é de salientar que é improvável que estes fenómenos ocorram, dado que a bebida é formulada no intervalo de pH $3,0 \pm 0,2$ (Laclair e Etzel, 2010).

A osmolalidade não foi avaliada, pelo que não se pode assegurar que a bebida é isosmótica. Mas, geralmente as bebidas que contêm 6 – 8% de açúcar são classificadas como isosmóticas. Além disso, as proteínas possuem um elevado peso molecular e quanto maior o peso molecular, menor a contribuição para a osmolalidade, por isso pensa-se que o valor de osmolalidade da bebida não deve sair do intervalo de isotonicidade de 270 - 330 mOsm/kg água. Tem-se por objectivo desenvolver uma bebida isosmótica, porque tal como já foi referido um fluido isotónico permite uma maior absorção de água, glícidos e minerais (Ferreira *et al.*, 2010)

A escolha do ingrediente que fornece as PSL's é um dos passos mais importantes para a formulação de uma bebida enriquecida com PSL's. Uma quantidade cada vez maior de pesquisas sugere que o CPS 80 e o IPS são ideais para pessoas que praticam exercício físico regular. O CPS 80 e o IPS não só fornecem uma fonte pura de proteínas de alta qualidade, como possuem uma quantidade mínima de gordura, glícidos e lactose (Cribb *et al.*, 2005). Os factores a ter em conta na escolha da fonte de PSL's são nomeadamente: os métodos de isolamento utilizados que determinam a composição do CPS e do IPS e a consistência da fonte e do processo de produção destes ingredientes (Rittmanic e Burrington, 2006). Como o teor em lípidos e glícidos é bastante menor no IPS, este torna-se o ingrediente ideal para a formulação de bebidas de pH ácido em que se pretende minimizar a formação de turvação após o tratamento térmico e a ocorrência dos sabores/aromas indesejáveis associados às PSL's.

A formulação de uma bebida que aumenta a saciedade seria outro projecto interessante, porém esta bebida teria de ter elevados teores de proteína por dose (9,6% proteína/dose), pelo que não se arriscou a sua formulação neste trabalho experimental.

V. Materiais e Métodos

1. Materiais²

1.1. Elaboração das formulações

Para a elaboração da bebida isosmótica/isotónica enriquecida com proteínas de soro utilizou-se IPS. O IPS foi fornecido por cinco diferentes fornecedores. Cada um destes IPS's apresentou diferentes características em termos de constituição proteica e em aminoácidos. Na Figura 5.1. encontra-se um gráfico que evidencia a diferente composição nutricional dos isolados em termos de proteína e aminoácidos, segundo as informações fornecidas pelos fornecedores.

Os IPS's não apresentavam apenas variações quanto a sua constituição nutricional. A origem, os métodos de obtenção e pulverização dos diferentes isolados, assim como o valor de pH variavam de isolado para isolado. Na tabela 5.1. estão referidas algumas das características dos isolados de PSL utilizados.

O desenvolvimento da bebida desportiva enriquecida com PSL passou por várias fases, tendo-se efectuado um número significativo de formulações em que se utilizaram diferentes ingredientes. Os ingredientes utilizados encontram – se listados na Tabela 5.2.

Tabela 5.1 – Características dos isolados de proteína de soro de leite utilizados.

IPS	Fonte	Processo de obtenção	Ingredientes	pH
1	Soro de leite doce	Ultrafiltração e microfiltração de fluxo cruzado Secagem por aspersão (<i>spray drier</i>) e aglomeração	-	Ácido (3,1)
2	Soro de leite doce	Ultrafiltração e microfiltração de fluxo cruzado Secagem por aspersão (<i>spray drier</i>) e aglomeração	Ácido cítrico Ácido fosfórico	Ácido (3,31)
3	Soro de leite doce	Microfiltração de fluxo cruzado a baixa temperatura	Lecitina ¹	Neutro (5,8 - 6,4)
4	Soro de leite doce	Ultrafiltração e microfiltração de fluxo cruzado Secagem por aspersão (<i>spray drier</i>) e aglomeração	-	Neutro (6,4)
5	Soro de leite doce		-	Ácido (3,8)

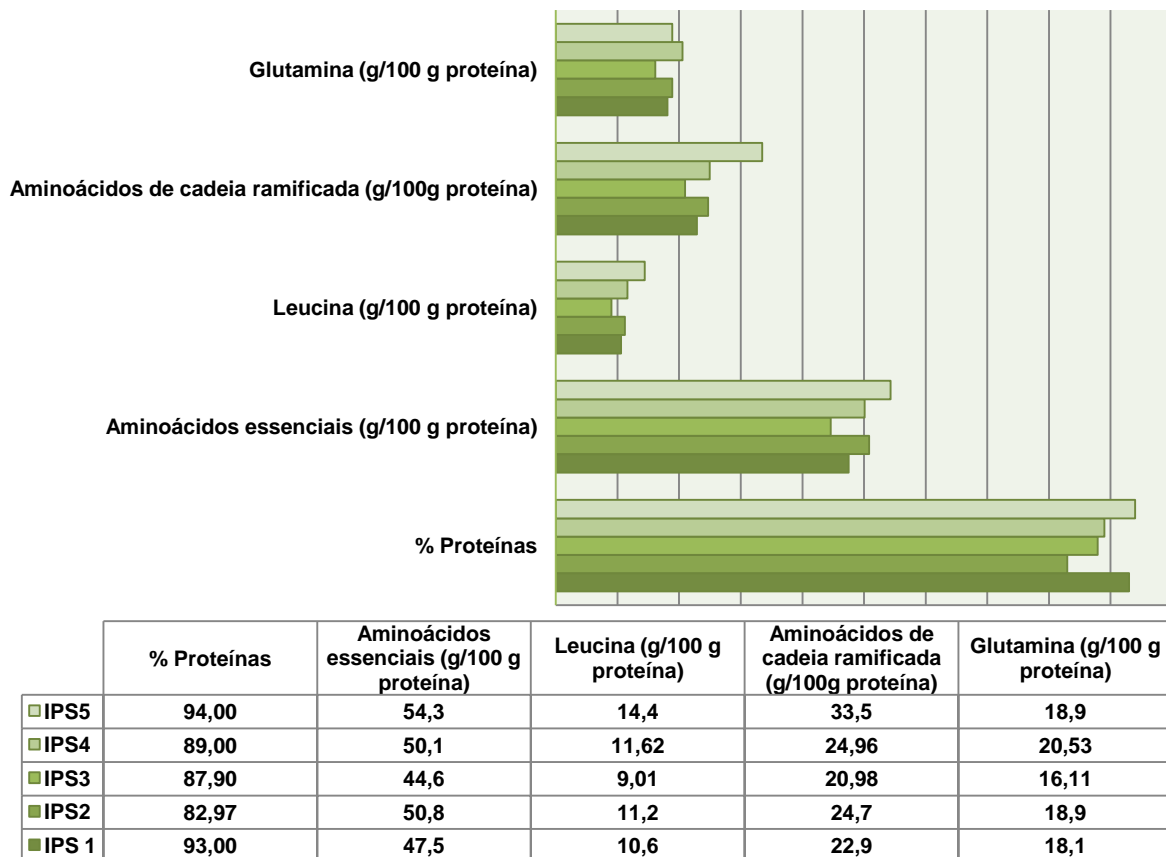
¹ A lecitina é utilizada com intuito de obter propriedades de dispersão superiores.

² Os fornecedores dos vários ingredientes utilizados na formulação das bebidas não são indicados por motivos de sigilo, de modo a que as formulações efectuadas não possam ser reproduzidas.

Tabela 5.2 - Ingredientes utilizados nas várias formulações efectuadas no decorrer do processo de desenvolvimento da bebida desportiva.

Ingredientes utilizados nas formulações efectuadas	
Água	Água do processo
Açúcares	Frutose e Sacarose.
Acidulantes	Ácido cítrico e Ácido fosfórico;
Conservante	Sorbato de potássio
Aromas	Limão; Laranja; Tangerina; Ananás; Coco.
Minerais	Metafosfato de cácio; Metafosfato de potássio; Cloreto de sódio.
Outros açúcares	Outro glícido; Concentrado de frutas.
Edulcorantes	Sucralose; Aspartámo; Acessulfamo K.
Potenciadores de sabor	Aroma modulador

Constituição protéica e aminoacídica dos IPS

**Figura 5.1 - Gráfico representativo da diferente constituição proteica e aminoacídica dos diferentes IPS.**

2. Métodos

2.1. Análise de bebidas desportivas presentes no mercado

Foram recolhidas bebidas desportivas presentes no mercado e procedeu-se à análise das suas características físico – químicas segundo os procedimentos da secção 2.4 deste capítulo. Os resultados já foram mostrados no capítulo anterior.

2.2. Escolha de matérias – primas: Ensaio de dissolução dos isolados de proteína de soro

Os IPS's providos pelos diferentes fornecedores foram dissolvidos em água (do processo), de modo a avaliar as características físico-químicas de cada um. As quantidades de água estão descritas na Tabela 5.3. Pretende-se obter soluções de 250 mL a 1% proteína (m/v).

Procedeu-se à análise do Brix, pH, turvação e acidez titulável, segundo os procedimentos enunciados na secção 2.4. deste capítulo. A cor também foi avaliada visualmente e foram tiradas fotografias de modo a documentar a aparência dos isolados de proteína dissolvidos em água, por comparação com a água.

Tabela 5.3 - Quantidades de isolado de proteína de soro (g) para obtenção de soluções de proteína a 1% (m/V) dos diferentes isolados.

		Massa de IPS (g)	Volume (mL)
IPS (IPS)	IPS 1	2,69	250
	IPS 2	3,01	250
	IPS 3	2,84	250
	IPS 4	2,81	250
	IPS 5	2,66	250

2.3. Formulação da bebida

O refrigerante a desenvolver apresenta um carácter funcional, pelo que é importante garantir que os benefícios associados às PSL's sejam assegurados na bebida formulada. Pretende-se assim, desenvolver um refrigerante que possua 2% PSL (m/v), e ainda um outro que possua 5% PSL (m/v) de pH no intervalo de valores de $3,0 \pm 0,2$.

Os limites máximos dos aditivos como os acidulantes (ácido cítrico e ácido fosfórico) e sorbato de potássio são estabelecidos pelo(s) Decreto-lei 121/98, de 8 de Maio e Decreto-lei 193/2000, de 18 de Agosto, respectivamente. A bebida a desenvolver consiste num refrigerante aromatizado isotónico, pelo que os limites máximos tanto para o ácido cítrico como para o ácido fosfórico é *quantum satis*. No caso do sorbato de potássio, o limite máximo é de 300 mg/mL.

As formulações das bebidas serão desenvolvidas ao nível da escala laboratorial segundo o processo de produção enunciado na Figura 5.2.

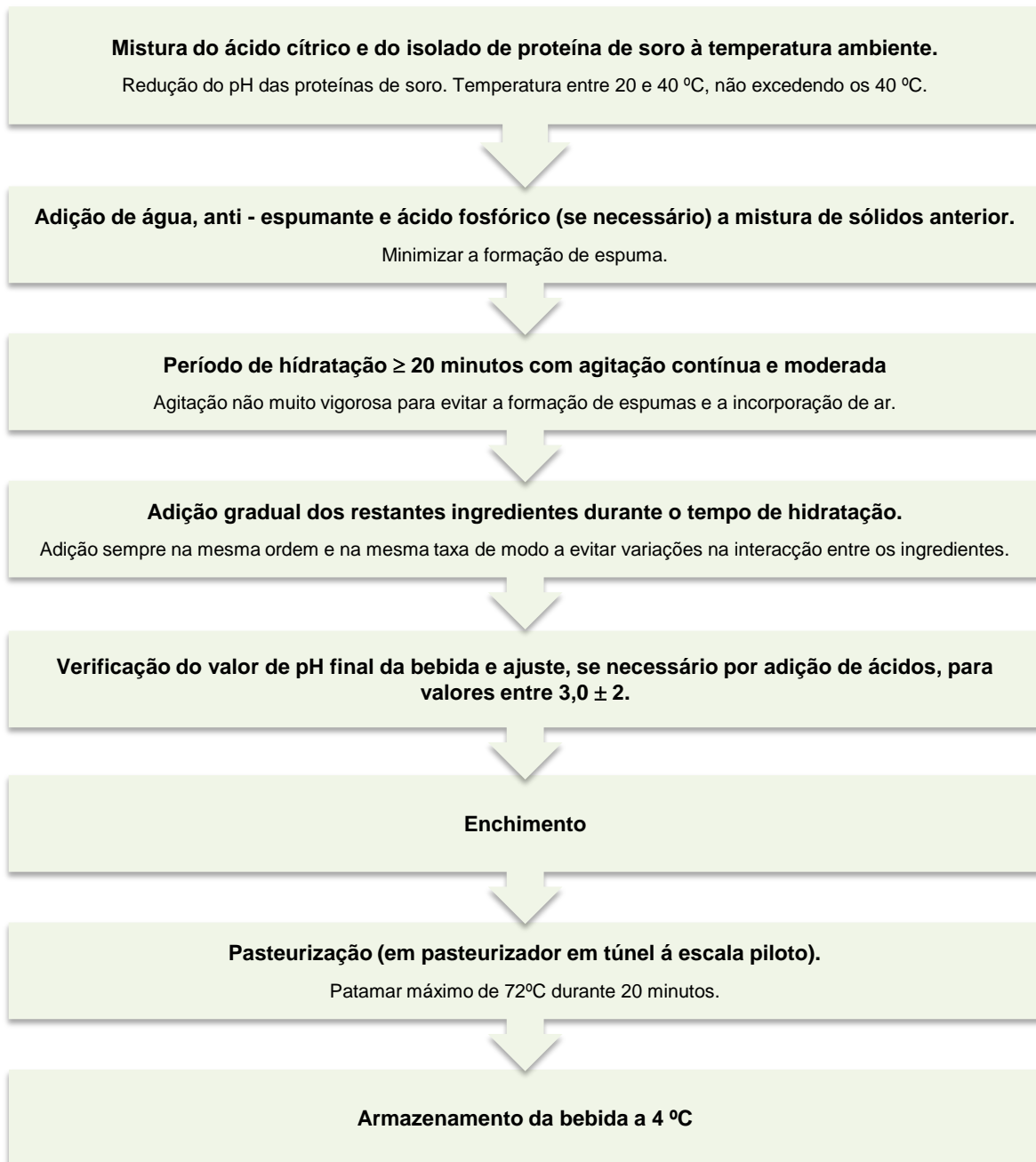


Figura 5.2. - Esquema de produção das formulações das bebidas de proteína de soro (Adaptado de USDEC,2006).

2.3.1. Formulação – base com os vários isolados de proteína de soro de leite

Nesta fase foram efectuadas cinco formulações diferentes (IPS1; IPS2; IPS3; IPS4; IPS5) de acordo com a formula-base (Rittmanic e Burrington, 2006) enunciada na Tabela 5.4., em que o ingrediente que difere será o IPS utilizado e a quantidade de acidulantes utilizada para atingir o valor de pH desejado.

Com o objectivo de efectuar a melhor escolha quanto aos diferentes isolados, a formulação-base apresenta um teor de 5% PSL. Os factores negativos associados a este tipo de bebidas como, a turvação, adstringência e sabores indesejáveis, estão maximizados com um maior teor de proteína (5%). Posteriormente, foram efectuadas as análise físico – químicas e a análise sensorial pelo painel de provadores de afinação, de modo a proceder à escolha do melhor IPS. Com o intuito de documentar o aspecto visual das bebidas formuladas com 5% de proteína após a pasteurização, tiraram-se fotografias.

Tabela 5.4. - Formulações – base para a bebida com 5% proteína de soro de leite (Adaptada de Rittmanic e Burrington, 2006).

		Formulações – base (5% PSL)				
Ingredientes		IPS1	IPS2	IPS3	IPS4	IPS5
Quantidades para 100 mL de bebida	Água do processo	qs	qs	qs	qs	Qs
	Frutose (g)	6	6	6	6	6
	IPS (g)	5,38	6,03	5,7	5,6	5,32
	Aroma de limão (mL)	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
	Sorbato de potássio (g)	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03
	Potássio (g)	0,012	0,012	0,012	0,012	0,012
	Cloreto de sódio (g)	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04
	Cálcio (g)	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
	Ácido cítrico	0,26 ^{*1}	0,32 ^{*1}	0,32 ^{*1}	0,32 ^{*1}	0,32 ^{*1}
	Ácido fosfórico (mL)	-	-	0,41	0,48	0,02

^{*1} As quantidades de ácido adicionados são distintas, uma vez que o pH inicial de cada um dos isolados proteicos é diferente.

2.3.2. Formulação da bebida com 2% proteínas de soro de leite

Feita a escolha do melhor IPS, procedeu-se a certas alterações na formulação-base com o objectivo de se obter uma bebida isosmótica mais equilibrada nas suas propriedades funcionais e organolépticas. As alterações efectuadas foram quanto ao tipo e proporções de açúcar e também ao nível dos sais. A formulação com estas alterações é identificada pela letra A para a bebida com 2% PSL

(m/v). Na Tabela 5.5. encontram-se descritas as várias formulações efectuadas com 2%PSL (m/v). Todas as formulações com 2% PSL foram efectuadas dentro do intervalo de pH $3,0 \pm 0,2$.

A bebida de 2% PSL foi formulada com diferentes aromas e com diferentes quantidades de aroma (Tabela 5.6). Além disso, foram ainda efectuadas duas formulações com fontes de açúcar alternativas. Na formulação identificada pela letra B utilizou-se concentrado de frutas, já na formulação identificada pela letra C substituiu-se a frutose por outro glícido

As formulações enunciadas foram sujeitas a análises físico-químicas (apenas a um dos sabores), sendo posteriormente submetidas a análise sensorial pelo painel de provadores de afinação. As formulações aprovadas pelo painel de afinação foram sujeitas a análise sensorial pelo painel de provadores oficial e foram analisadas quanto aos parâmetros físico-químicos para todos os sabores.

As várias formulações enriquecidas com 2% PSL (m/v) foram sendo ajustadas quanto a acidez e ao aroma, com o objectivo de se atingir uma formulação aceitável para o painel de provadores oficial.

Tabela 5.5 - Formulações para as bebidas enriquecidas com 2% PSL.

		Formulações das bebidas com 2% PSL					
Ingredientes		A ₁	A ₂	A ₃	A ₄	B ₁	C ₁
Quantidades para 100 mL de bebida	Água (mL)	qs	Qs	Qs	qs	Qs	qs
	Xarope de Sacarose (g)	5,65	5,65	5,65	5,65	-	5,65
	Frutose (g)	2,5	2,5	2,5	2,5	-	-
	Concentrado de frutas	-	-	-	-	6,0	-
	Outro glícido	-	-	-	-	-	2,5
	IPS (g)	2,16	2,16	2,16	2,16	2,16	2,16
	Sorbato (g)	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03
	Cloreto de sódio (g)	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12
	Ácido cítrico (g)	0,21	0,26	0,26	0,26	0,26	0,26

Tabela 5.6 - Aromas e quantidade aromas utilizados nas diferentes formulações com 2% PSL.

Aromas (mL)		Formulações com 2% PSL					
		A ₁	A ₂	A ₃	A ₄	B ₁	C ₁
Quantidades para 100 mL de bebida	<i>Limão</i> (L)	0,1	0,2	-	-	0,2	0,2
	<i>Limão + Aroma modulador₁</i> (LB ₁)	0,1 + 0,01	0,2 + 0,01	-	-	0,2 + 0,01	0,2 + 0,01
	<i>Limão + Aroma modulador₂^{*1}</i> (LB ₂)	-	0,2 + 0,02	0,2 + 0,01	-	0,2 + 0,02	0,2 + 0,02
	<i>Limão alternativo</i> (L*)	0,1	-	-	-	-	-
	<i>Laranja</i> (Lj)	0,1	0,2	0,25	0,15	0,2	0,2
	<i>Laranja + Aroma modulador₂</i> (LjB ₂)		0,2 + 0,02	-	-	0,2 + 0,02	0,2 + 0,02
	<i>Tangerina</i> (T)	0,1	0,2	0,25	-	0,2	0,2
	<i>Tangerina + Aroma modulador₂</i> (TB ₂)		0,2 + 0,02	-	-	0,2 + 0,02	0,2 + 0,02
	<i>Ananás – Coco</i> (AC)	0,1 + 0,1	0,2 + 0,1	0,2 + 0,01	-	0,2 + 0,1	0,2 + 0,1

2.3.3. Formulação da bebida com 5% proteínas de soro de leite

Feita a escolha do melhor IPS, procedeu-se a certas alterações na formulação–base como já foi referido. A formulação com estas alterações é identificada com A⁺ para a bebida com 5% PSL. As formulações com 5% PSL são apresentadas na Tabela 5.7.

Como é esperada uma maior notoriedade dos sabores indesejáveis e menor efeito dos aromas nas formulações com 5% PSL, foi tomada a decisão de efectuar a formulação com a maior quantidade de aromas já testada para as formulações com 2% PSL. Assim, efectuou-se a formulação A⁺₃ com os aromas e quantidades enunciadas na Tabela 5.8.

Dada a maior adstringência esperada nas formulações com 5% PSL, efectuaram-se duas formulações recorrendo ao uso de edulcorantes com o objectivo de mascarar a adstringência pelo aumento da doçura. Os edulcorantes utilizados foram a sucralose (B⁺₃) e o acessulfamo K (C⁺₃). As quantidades de sucralose e acessulfamo K utilizadas foram 0,06 g/L e 0,1 g/L, respectivamente.

A formulação A⁺₃, B⁺₃ e C⁺₃ nos diversos sabores testados foi analisada sensorialmente pelo painel de afinação e sujeitas a análises físico – químicas para apenas um sabor.

Posteriormente, efectuou-se mais uma formulação com 5% PSL que se designou por C⁺₄ em que se reduziu a quantidade de acessulfamo K para 0,003 g/L. A formulação C⁺₄ nos diversos sabores foi apenas sujeita a análises físico-químicas.

Tabela 5.7 - Formulações para as bebidas enriquecidas com 5% PSL.

		Formulação (5%)				
Ingredientes		A ⁺ ₁	A ⁺ ₃	B ⁺ ₃	C ⁺ ₃	C ⁺ ₄
Quantidades para 100 mL de bebida	Água (mL)	Qs	Qs	Qs	Qs	qs
	Xarope de Sacarose (g)	5,65	5,65	5,65	5,65	5,65
	Frutose (g)	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
	IPS (g)	5,40	5,40	5,40	5,40	5,40
	Sorbato (g)	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03
	Cloreto de sódio (g)	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12
	Ácido cítrico (g)	0,33	0,33	0,33	0,33	0,33
	Sucralose	-	-	0,006	-	-
	Acessulfamo K	-	-	-	0,01	0,003

Tabela 5.8 - Aromas e quantidade aromas utilizados nas diferentes formulações com 5% PSL.

		Formulações com 5% PSL				
Aromas (mL)		A ⁺ ₁	A ⁺ ₃	B ⁺ ₃	C ⁺ ₃	C ⁺ ₄
Quantidades para 100 mL de bebida	Limão (L)	0,1	-	-	-	0,2
	Limão + Aroma modulador ₁ (LB ₁)	0,1 + 0,01	-	-	-	0,2 + 0,01
	Limão + Aroma modulador ₂ ^{*1} (LB ₂)	0,1 + 0,02	0,2 + 0,01	0,2 + 0,01	-	0,2 + 0,02
	Limão alternativo (L*)	-	-	-	-	-
	Laranja (Lj)	0,1	0,25	0,25	0,15	0,2
	Laranja + Aroma modulador ₂ (LjB ₂)	-	-	-	-	0,2 + 0,02
	Tangerina (T)	0,1	0,25	0,25	-	0,2
	Tangerina + Aroma modulador ₂ (TB ₂)	-	-	-	-	0,2 + 0,02
	Ananás – Coco (AC)	0,1+ 0,1	0,2 + 0,01	0,2 + 0,01	-	0,2+ 0,1

2.4. Tratamento térmico

As bebidas são colocadas num pasteurizador *flash* à escala piloto, em que as garrafas das bebidas são mergulhadas num banho de água. As bebidas são sujeitas a diferentes patamares de temperatura: P1 – 26 °C durante 10 minutos; P2 – 50 °C durante 10 minutos; P3 – 62 °C durante 10 minutos; P4 – 72 °C durante 20 minutos; P5 – 5 °C durante 10 minutos.

2.5. Formulação do pó

A formulação do pó consiste na combinação de uma bicarbonato alcalino com um ou dois ácidos orgânicos diferentes, aceitáveis para o consumo humano. Neste trabalho, a formulação do pó será baseada no trabalho de Iacovone e outros (2010).

Segundo Iacovone e outros (2010) a quantidade de bicarbonato deve ser menor ou igual à maior quantidade de um ou outro ácido utilizado. Esta combinação em que se utiliza uma pequena quantidade de bicarbonato em relação ao ácido, assegura que o valor de pH não aumenta ao longo do tempo e que o aumento de acidez aumenta a estabilidade da bebida.

O bicarbonato utilizado é bicarbonato de sódio e os ácidos utilizados são o ácido tartárico e ácido cítrico. A quantidade de bicarbonato é menor ou igual a 3%, já as quantidades utilizadas de ácido cítrico são iguais ou menores que 2,5% e as de ácido tartárico são iguais ou menores que 3%. As proporções dos três ingredientes que provocam a efervescência e o ingrediente funcional, que é o IPS são apresentadas na Tabela 5.9. Primeiramente, foram efectuados ensaios para uma quantidade de bebida de 2% PSL (m/v) de 250 mL, em que as formulações do pó foram acrescentadas a 250 mL à bebida com 2% PSL e foram agitadas de modo a dissolver o pó efervescente e obter uma bebida terminada com 5% PSL.

Nos ensaios seguintes foram seleccionadas as formulações que obtiveram um pH mais próximo do pH pretendido para bebida com 5% PSL (E e G) e foram ajustados quanto às quantidades de bicarbonato, ácido cítrico e ácido tartárico, de modo a aumentar a efervescência e aumentar assim a taxa de dissolução do pó.

Por último, efectuou-se um ensaio com as formulações mais satisfatórias do ensaio anterior em que os ingredientes do pó foram proporcionados para a dose de 500 mL de bebida.

A mistura do pó com a bebida de 2% PSL (m/v), em todos os ensaios, foi efectuada em garrafas de plástico de 500 mL, de modo a simular a mistura efectuada pelo consumidor e assim perceber os fenómenos e os possíveis problemas decorrentes aquando da mistura.

As misturas das formulações de pó com a bebida terminada de 2% PSL efectuadas para os vários ensaios foram analisadas quanto ao pH, segundo a secção 2.6 deste capítulo. A medição do pH

foi efectuada de modo a seleccionar as formulações de pó que permitem obter as características pretendidas em termos de pH e acidez da bebida terminada. A efervescência foi avaliada visualmente.

Tabela 5.9 - Formulações do pó efervescente (Ensaio com 250 mL de bebida).

	Bicarbonato de sódio		Ácido cítrico		Ácido tartárico		IPS		Massa total (g)
	%	Massa	%	Massa	%	Massa	%	Massa	
A ₁	2,4	0,21	1,9	0,17	1,9	0,17	93,6	8,1	8,65
B ₁	2,4	0,21	1,9	0,17	2,4	0,21	93,2	8,1	8,69
C ₁	2,4	0,21	2,4	0,21	1,9	0,17	93,2	8,1	8,69
D ₁	2,9	0,25	1,9	0,17	2,4	0,21	92,8	8,1	8,73
E ₁	2,4	0,21	1,9	0,17	2,9	0,24	92,9	8,1	8,72
F ₁	2,4	0,21	1,0	0,08	1,9	0,17	94,6	8,1	8,56
G ₁	1,9	0,17	1,0	0,08	2,9	0,24	94,3	8,1	8,59
H ₁	2,2	0,19	1,0	0,08	2,9	0,24	94,1	8,1	8,61
E ₂	4,5	0,42	3,6	0,34	5,1	0,48	86,7	8,1	9,34
E ₃	9,7	0,84	7,8	0,68	11,0	0,96	71,5	8,1	8,69
E ₄	19,6	1,7	15,7	1,36	22,1	1,92	42,7	8,1	8,69
G ₂	3,9	0,34	1,8	0,16	5,5	0,48	88,8	8,1	8,73
G ₃	7,8	0,68	3,7	0,32	11,0	0,96	77,5	8,1	8,72

2.6. Análises físico-químicas

As análises químicas e físico-químicas foram realizadas em triplicata em todas as formulações para caracterização de cada amostra. Foram realizadas as seguintes análises: acidez titulável com resultados expressos em g/100 mL de ácido cítrico anidro; pH; sólidos solúveis (°Brix) e turvação (unidades NTU). A análise da turvação e do Brix é efectuada antes e após a pasteurização nas formulações iniciais de modo a documentar as alterações que ocorrem devido ao tratamento térmico.

- ❖ **Determinação da acidez titulável (ácido cítrico anidro):** Método de análise para determinação da acidez titulável segundo a Norma Portuguesa EN 12147:1999. Efectua-se uma titulação potenciométrica com solução padrão de hidróxido de sódio 0,25 N até pH 8,1, de um volume de amostra (V_0) de 25 mL por recurso ao titulador automático 785 DMP titrino da Metrohm. Regista-se a quantidade de solução (V_1) gasta. A acidez titulável C_{H^+} , expressa em mmol H^+ por litro de produto, é obtida a partir da fórmula:

$$C_{H^+} = \frac{1000 \times V_1 \times c}{V_0}$$

Sendo:

V_0 – o volume, em mL, de toma da amostra, normalmente 25 mL;

V_1 – o volume, em mL, da solução de hidróxido de sódio utilizada na determinação;

c – a concentração exacta, em mol/L, da solução de hidróxido de sódio.

Se V_0 for igual a 25 mL e c a 0,25 mol/L, a acidez titulável C_{H^+} expressa em mmol de H^+ por 100 mL, de produto, é obtida pela seguinte fórmula: $C_{H^+} = V_1$.

A acidez titulável pode ser expressa, convencionalmente, em gramas por 100 mL de ácido cítrico anidro, multiplicando o V_1 pelo factor 0,064. O resultado deve ser expresso em g por 100 mL de ácido cítrico anidro (ACA) com duas casas decimais.

Antes de efectuar as medições é necessário efectuar a calibração do aparelho com solução - tampão de pH = 7,01 ± 0,01 e solução - tampão de pH = 4,01 ± 0,01.

- ❖ **Medição do pH:** Determinação do pH pelo método potenciométrico por recurso ao eléctrodo do titulador automático 785 DMP titrino da Metrohm.

Antes de efectuar as medições, é necessário efectuar a calibração do aparelho com solução - tampão de pH = 7,01 ± 0,01 e solução - tampão de pH = 4,01 ± 0,01. Para verificação do correcto funcionamento do aparelho efectua-se a medição do pH de uma solução tampão de pH 6,01 ± 0,01.

- ❖ **Determinação dos sólidos solúveis (°Brix):** Método refractométrico para a determinação dos sólidos solúveis segundo a Norma Portuguesa EN 12143:1999. O teor de sólidos é determinado por refractometria por recurso ao refractómetro digital Mettler Toledo RE50. O teor de sólidos consiste na percentagem mássica numa solução de sacarose em água, que nas mesmas condições, tem o mesmo índice de refacção que o produto analisado. O teor de sólidos solúveis do produto é expresso em gramas por 100 gramas e o resultado deve ser apresentado com 1 casa decimal.

Para verificação do correcto funcionamento do aparelho efectua-se a medição do valor de Brix da água destilada, que deve ser 0,00.

- ❖ **Turvação:** Este método baseia-se na comparação da intensidade da luz difundida pela amostra, sob determinadas condições, com a intensidade de luz difundida pela suspensão - padrão de referência (formazina) sob as mesmas condições. O equipamento utilizado é um turbidímetro do tipo HZ - 013, Lg - automatic aps, com recurso a um banho de água a 20 ± 0,5 °C, com recirculação. Inicialmente, deve-se verificar o zero, lendo a turvação da água destilada, na cuvete cuidadosamente limpa. Posteriormente, transvassa-se a amostra (mínimo 140 mL) para a cuvete e colocá - la na câmara de

leitura. Ligar o botão “ON” e efectuar a leitura, após estabilização, em unidades de EBC. Os resultados devem ser apresentados com duas casas decimais até 1 unidade EBC, com uma casa decimal até 4 unidades EBC e sem casa decimal > 4 unidades de EBC. O valor máximo é de 14 EBC, pelo que pode ser necessário efectuar uma diluição da amostra, nesses casos efectua-se uma diluição de 1:10 (25 mL de solução em 250 mL água destilada).

Para verificação do correcto funcionamento do aparelho efectua-se uma primeira medição com água destilada em que o valor mensurado deve ser 0,00.

A turvação é muitas vezes mensurada em NTU (*nephelos turbidity units*) e maior parte dos trabalhos publicados que exploram a turvação das bebidas de PSL's utilizam esta unidade, pelo que a unidade EBC é convertida em NTU de modo a facilitar a comparação dos resultados obtidos com os dados obtidos das referências bibliográficas. O factor de conversão é $1 \text{ EBC} = 4,081 \text{ NTU}$.

2.7. Análise sensorial

Durante os ensaios preliminares realiza-se a análise sensorial com as cinco formulações que diferem entre si no IPS utilizado (Tabela 5.4.). Neste ensaio inicial, as amostras serão provadas por um painel de provadores de afinação, de modo a se detectar qual o isolado de PSL que fornece melhores características sensoriais à bebida. Além disso, pretende-se que sejam identificadas as características que precisam ser modificadas para se chegar à formulação ideal.

Posteriormente, após a afinação da formulação com base nas características percebidas pelo painel de afinação, realizam-se novas formulações com 2%PSL e 5%PSL. Estas novas formulações vão sendo avaliadas pelo painel de provadores de afinação e quando consideradas aceitáveis serão sujeitas a análise por parte do painel de provadores oficial.

Finalmente, efectua-se um ensaio de estabilidade, seguido de uma análise sensorial, com o aroma que apresenta maior probabilidade de oxidação.

As amostras devem ser servidas a uma temperatura uniforme e preferencialmente a 12 °C para que a percepção do aroma/gosto (*flavour*) seja completa. A quantidade a colocar em cada copo é de 50 a 100 mL. Os copos com as amostras são apresentados à equipa em séries convenientes e as amostras são distribuídas de igual modo aos elementos da equipa. Apesar de não ser necessário que todos os elementos da equipa de provadores tenham as mesmas amostras, cada amostra deverá ser provada por 3 elementos (mínimo). O ideal seria 6 ou mais.

Durante a prova, qualquer troca de impressões entre os provadores deve ser interdita e o silêncio deverá ser mantido até que todos os membros efectuem a sua avaliação. Os provadores deverão começar por cheirar as amostras, uma a uma. Depois devem prová-las, uma a uma e, se for necessário, devem repetir a avaliação. A escala a utilizar para expressar as diferentes impressões sentidas no aroma e gosto é enunciada na Tabela 5.10. O boletim a preencher tipo encontra-se em

ANEXO I e neste também devem ser descritas as impressões de aroma e gosto detectadas (ANEXO II), atribuindo um peso (Tabela 5.10.), especialmente se for atribuída uma pontuação igual ou inferior a -1.

Após a prova é calculada a média (após anulação de alguma pontuação aberrante) para cada amostra. Uma média $> -1,0$ é considerada “satisfatória”. Uma média $\leq -1,0$ é considerada “não suficientemente satisfatória”. Uma média $\leq -1,5$ é considerada “não satisfatória”.

Tabela 5.10 - Escala de avaliação global da bebida e escala de pesos atribuídas aos termos de análise sensorial.

Avaliação Global		Pesos	
+1	Produto de óptima qualidade	1	Ligeiro
0	Normal para este tipo de produto	2	Moderado
-1	Com defeitos aceitáveis para este tipo de produto	3	Forte
-2	Com defeitos não aceitáveis para este tipo de produto		
-3	Com defeitos tão graves que requerem acção imediata		

2.8. Ensaio de estabilidade

A formulação com 2% PSL é sujeita a um ensaio de estabilidade em que as amostras são sujeitas às temperaturas de 27°C, 37°C e 47°C, durante 1 semana, 2 semanas, 3 semanas e 4 semanas. As amostras serão posteriormente submetidas a análise sensorial, avaliando-se as características organolépticas e estimando-se o tempo de prateleira das formulações das bebidas. O ensaio de estabilidade foi efectuado com a formulação A3 com o aroma de limão + aroma modulador₂. Esta escolha deve-se ao facto de o aroma de limão ser o aroma mais sensível às oxidações, pelo que será o pior cenário possível de estabilidade para esta formulação.

As amostras sujeitas ao ensaio de estabilidade foram também analisadas quanto às características físico – químicas de modo a documentar as mudanças que ocorreram ao longo do tempo e a diferentes temperaturas.

2.9. Análise estatística

Os dados das análises físico – químicas, com o objectivo de analisar a variação, foram avaliados através de uma análise de variância (conhecida como ANOVA), em que se testa a igualdade de médias fazendo – se a análise da variância de cada variável, comparando – as de forma agrupada. Aplicou-se o teste ANOVA de uma entrada, para um grau de significância de 0,05.

A análise de variância de uma entrada foi efectuada para as análises físico – químicas efectuadas às formulações – base com os IPS de diferentes fornecedores e também às várias formulações efectuadas com 2% PSL e com 5% PSL.

A análise de variância de duas entrada foi efectuada para analisar a influência da pasteurização sobre o Brix e turvação.

VI. Resultados e Discussão

1. Ensaio de dissolução dos isolados de proteína de soro

Após dissolução dos IPS's dos diferentes fornecedores e análise das propriedades físico-químicas, obtiveram-se os resultados evidenciados na Tabela 6.1. O aspecto das soluções de isolado com 1% proteína, em comparação com a água é evidenciado na Figura 6.1.

Quanto à formação de espuma, tanto o IPS4 como o IPS5 formaram bastante espuma ao serem dissolvidos em água. O IPS2 também produziu uma quantidade de espuma significativa. Por sua vez o IPS3 foi o isolado em que se verificou menor espuma aquando da sua dissolução em água, devido ao seu conteúdo em lecitina. A espuma formada nos diferentes isolados é evidenciado na Figura 6.1. A facilidade de dissolução é outro aspecto a ter em conta, que se relaciona com a densidade do pó. O IPS4 é um pó pouco denso, tendo sido bastante difícil de dissolver. O IPS5 também foi um dos isolados mais difíceis de dissolver.

Tabela 6.1 – Propriedades físico – químicas das soluções (250 mL) de isolados de proteína de soro com 1% proteína. Média \pm Desvio – padrão

IPS (IPS)	Massa de IPS pesada	Brix (°B)	pH	Acidez (g/100 mL ACA)	Turvação (NTU)	Cor ^{*1}
IPS 1	2,70	1,33 \pm 0,01	3,41 \pm 0,000	0,113 \pm 0,012	2,65 \pm 0,04	(-)
IPS 2	3,02	1,47 \pm 0,01	3,48 \pm 0,000	0,173 \pm 0,012	76,19 \pm 0,58	(+)
IPS 3	2,84	1,43 \pm 0,01	6,92 \pm 0,000	0,0150 \pm 0,0001	123,30 \pm 0,64	(++)
IPS 4	2,80	1,15 \pm 0,00	4,09 \pm 0,000	0,0124 \pm 0,0001	8,44 \pm 0,05	(-)
IPS 5	2,67	1,43 \pm 0,06	6,65 \pm 0,000	0,0485 \pm 0,0001	142,33 \pm 0,94	(-)

*1 Cor amarela: (+) presente; (++)bastante presente; (-) não presente.

Este ensaio de dissolução inicial foi importante para serem notadas as diferentes características físico-químicas dos IPS's. A partir deste ensaio foi possível perceber que os isolados apesar de serem obtidos por processos de filtração por membrana e terem como fonte o soro de leite doce, apresentavam grandes variações nas propriedades físico-químicas.

O parâmetro de menor variação foi o Brix, ou seja, os IPS's possuem quantidades de açúcares muito semelhantes. O pH, por sua vez, apresentou alguma variação. Alguns dos IPS's são acidificados durante o processo de produção. Outros como o IPS2 têm na sua constituição ácido cítrico e fosfórico de modo a diminuir o pH das PSL imediatamente após a sua dissolução em água e facilitar a dissolução da proteína.

A turvação exibiu grandes variações, que podem ser explicadas pela formação de proteína desnaturada e de agregados de proteína durante os processos de fabricação do IPS. Roufik *et al.* (2005) descobriram que o IPS disponível comercialmente contém agregados de proteína insolúvel, que dificultam a solubilidade da proteína. Pelo que à partida os maiores valores de turvação dos isolados poderão dever-se à presença de maiores quantidades de agregados insolúveis (Roufik *et al.*, 2005).

A remoção dos agregados de proteínas por centrifugação ou filtração antes do processamento pode ser uma solução. Segundo dois trabalhos realizados em 2009 (filtração) e em 2010 (centrifugação) por Laclair e Etzel (2009, 2010), ambas as abordagens permitem reduzir a turvação significativamente após o aquecimento, sem alterar significativamente a concentração de proteínas. Este resultado foi atribuído à observação de que, uma quantidade muito pequena de agregados de proteínas insolúveis causa um aumento muito grande na turvação. Contudo, ao nível da produção industrial de refrigerantes é bastante complicado realizar estes processos físicos de separação, sem aumentar os custos de produção da bebida (Laclair e Etzel, 2009, Laclair e Etzel, 2010).

Neste ensaio, foram utilizadas quantidades de PSL de modo a obter soluções com 1% PSL. Esta quantidade de PSL é bastante menor relativamente à quantidade necessária para que sejam assegurados os benefícios funcionais e nutricionais das PSL. Contudo, os valores de turvação das soluções ultrapassaram em grande medida o valor de 40 NTU, que é o valor de turvação máximo não perceptível pelos consumidores. Apenas o IPS1 (2,65 NTU) e IPS4 (8,44 NTU) apresentaram valores que não seriam visíveis para os consumidores. Contudo, é de salientar que estas amostras não foram sujeitas à tratamento térmico.

A cor fornecida pelas PSL, é outro parâmetro a ter em conta. O IPS3 apresentou uma cor amarela mais pronunciada que se poderá dever a utilização de lecitina. A lecitina é um emulsionante que possivelmente foi aplicado para facilitar a dissolução do pó. E apesar do IPS3 ser o isolado de mais fácil dissolução, a sua cor amarela bastante pronunciada é pouco aceitável.

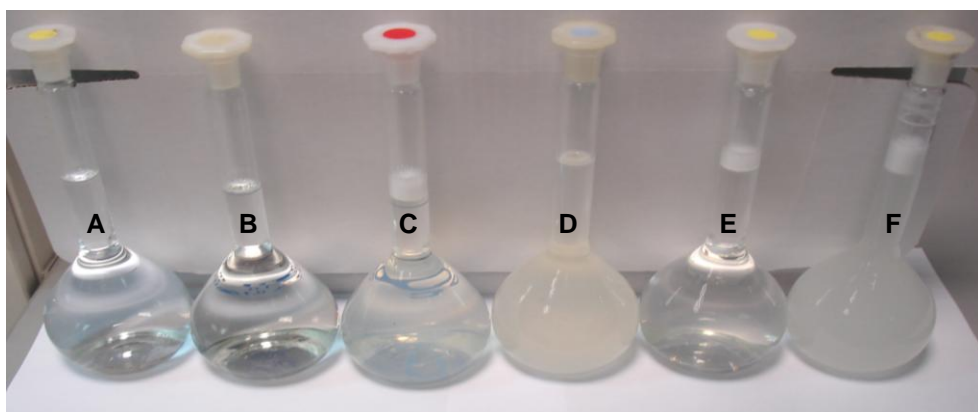


Figura 6.1 - Soluções dos isolados de proteína de soro com uma concentração de 1% proteína.

A – Água; B – IPS1; C – IPS2; D – IPS3, E – IPS4; F – IPS5.

2. Análises Físico – químicas

2.1. Formulação – base

As formulações-base foram analisadas quanto ao Brix e turvação antes da pasteurização, e após a pasteurização foram analisadas quanto ao Brix, turvação, pH e acidez titulável (expressa em ácido cítrico anidro). Os resultados destas análises físico-químicas encontram-se na Tabela 6.2.

Tabela 6.2 - Resultados das análises físico - químicas das cinco formulações - base utilizando os diferentes IPS's. Média \pm Desvio – padrão

Formulação – base (5% PSL)	Antes da pasteurização		Após pasteurização			
	Brix (°B)	Turvação (NTU)	Brix (°B)	Turvação (NTU)	pH	Acidez (g/100 mL ACA)
IPS 1	12,09 \pm 0,01	21,63 \pm 0,02	12,13 \pm 0,01	37,08 \pm 0,07	2,89 \pm 0,00	0,885 \pm 0,002
IPS 2	12,77 \pm 0,01	203,50 \pm 0,02	12,82 \pm 0,01	306,50 \pm 0,02	3,09 \pm 0,00	1,111 \pm 0,001
IPS 3	12,64 \pm 0,01	141,31 \pm 0,02	12,76 \pm 0,02	606,57 \pm 0,02	3,08 \pm 0,00	1,044 \pm 0,002
IPS 4	12,67 \pm 0,01	24,04 \pm 0,05	12,64 \pm 0,01	117,94 \pm 0,01	3,12 \pm 0,00	0,981 \pm 0,001
IPS 5	12,20 \pm 0,01	104,61 \pm 0,02	12,25 \pm 0,01	90,20 \pm 0,02	3,07 \pm 0,00	0,817 \pm 0,002

A variação das características físico – químicas, Brix e turvação devido à pasteurização é evidenciada pelos gráficos que se encontram representados nas Figuras 6.2. e 6.3., respectivamente. Como esperado, os valores de Brix variaram significativamente com 95% de confiança consoante o isolado utilizado e aumentaram devido ao tratamento térmico, existindo diferenças significativas entre as amostras com o mesmo IPS antes da pasteurização e após a pasteurização. Provavelmente, os valores de Brix aumentaram para todos os IPS's após o tratamento térmico, devido às reacções de conversão dos açúcares e reacções de *Maillard* (reacções de caramelização), que levam a um aumento ligeiro do Brix.

A turvação variou ainda mais de IPS para IPS, sendo que todos os valores de turvação diferiram significativamente uns dos outros, com 95% de confiança. Os valores de turvação foram bastante superiores ao valor de 40 NTU. Apenas o IPS1 apresentou valores de turvação inferiores. Estas diferenças são explicadas pela possível diferença de constituição em agregados insolúveis formados durante o processo de fabrico do IPS. Segundo Laclair e Etzel (2009) os agregados insolúveis presentes no IPS servem como locais de deposição de proteína solúvel, que levam a uma maior turvação. Hipoteticamente, o IPS3 apresentará maior quantidade de agregados insolúveis (Laclair e Etzel, 2009).

A turvação aumentou para quase todas as amostras após a pasteurização, sendo que o maior aumento verificado foi para o IPS3. Todas as amostras pasteurizadas foram significativamente diferentes

das amostras não-pasteurizadas com o mesmo IPS. Este fenómeno pode ser explicado pela acção do calor que desnatura as proteínas expondo os grupos reactivos, que prontamente participam nas reacções de agregação.

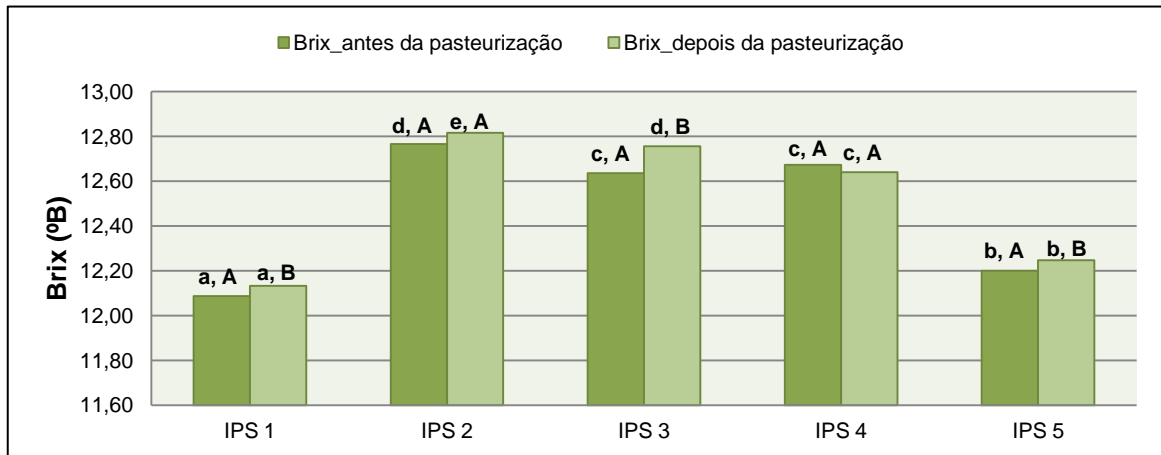


Figura 6.2 - Valores de Brix (°B) das formulações - base antes e após a pasteurização.

a – d As médias com letras diferentes diferem significativamente ($P < 0.05$).

A – B As médias e o tratamento térmico com letras diferentes diferem significativamente ($P < 0.05$).

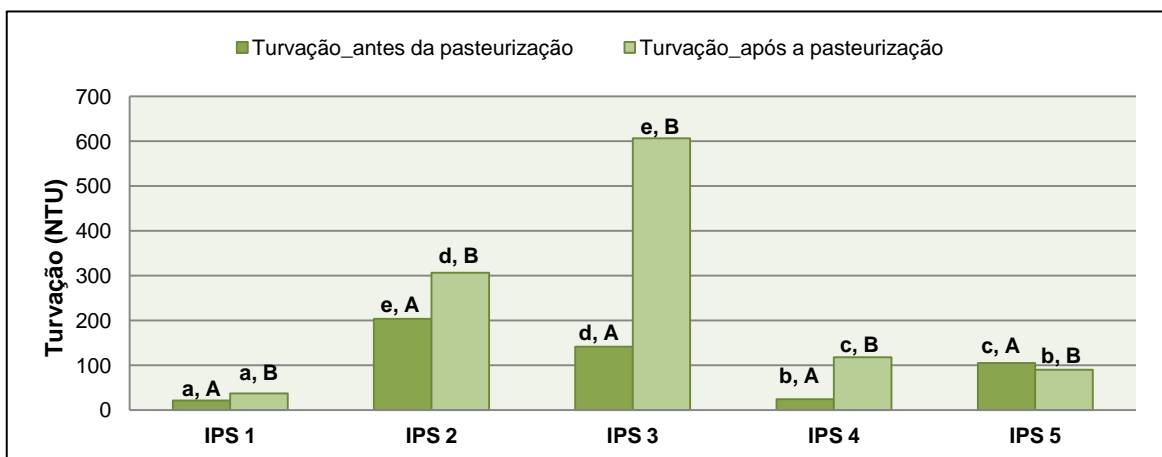


Figura 6.3. - Valores de turvação (NTU) das formulações - base antes e após a pasteurização.

a – d As médias com letras diferentes diferem significativamente ($P < 0.05$).

A – B As médias e o tratamento térmico com letras diferentes diferem significativamente ($P < 0.05$).

Apesar dos valores de pH estarem dentro do intervalo estipulado ($3,0 \pm 0,2$) para a formulação da bebida em questão, os valores de pH foram significativamente diferentes com 95% de confiança de formulação-base para formulação-base. Em consequência, a acidez titulável revelou o mesmo comportamento. Os valores de pH significativamente diferentes salientam a importância da etapa de acidificação da PSL durante a formulação da bebida. Alguns erros podem ter ocorrido nesta etapa, dado terem sido utilizados ácidos diferentes e quantidades de ácidos diferentes para cada IPS, de modo a atingir o valor de pH 3,0. Nesta etapa, a ordem e a taxa de adição dos ingredientes é de extrema

importância, e como os processos de formulação ainda não estavam afinados devem ter ocorridos erros que terão levado a estas diferenças de valor de pH (Rittmanic e Burrington, 2006). A variação das características físico-químicas, pH e acidez titulável, consoante o isolado utilizado são evidenciadas pelos gráfico da Figuras 6.4.

Por análise das características físico-químicas, a melhor opção de IPS para a formulação da bebida será o IPS1. O IPS1 apresenta menores valores de turvação e inferiores a 40 NTU, após o tratamento térmico. Contudo, esta decisão também está dependente da análise sensorial das bebidas formuladas com os diferentes IPS's.

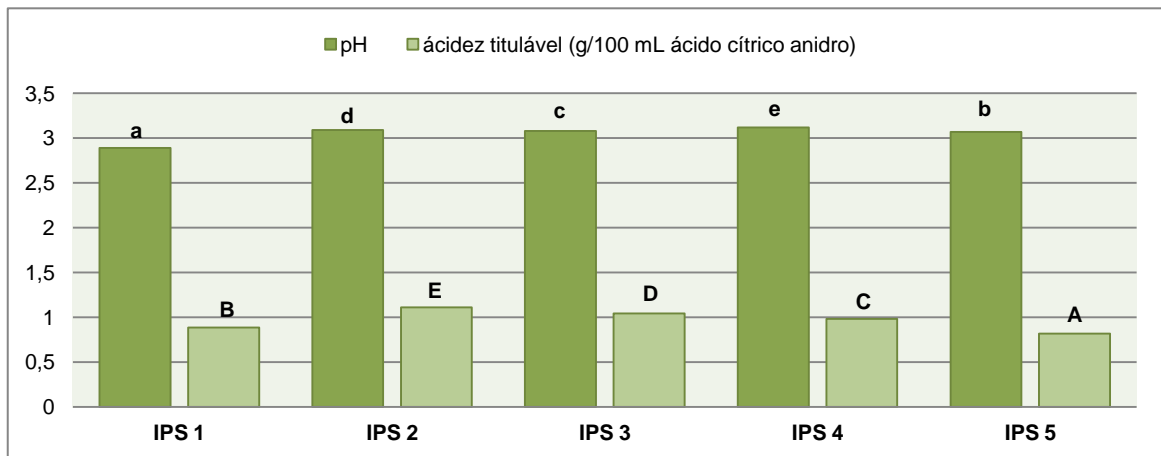


Figura 6.4. - Valores de pH e acidez titulável das formulações - base.

a – e As médias com letras diferentes diferem significativamente ($P < 0.05$).

A – D As médias com letras diferentes diferem significativamente ($P < 0.05$).

2.2. Formulações com 2% proteínas de soro de leite

As formulações com 2% PSL foram analisadas quanto ao Brix e turvação antes da pasteurização, e após a pasteurização quanto ao Brix, turvação, pH e acidez titulável (expressa em ácido cítrico anidro). Só nas formulações iniciais é que foi estudado o impacte do tratamento térmico sobre a turvação e Brix das bebidas. Os resultados das análises físico – químicas encontram-se na Tabela 6.3.

Tendo em conta que se utilizou 56,5 g/L de xarope de sacarose a 62ºBrix, 25 g/L de frutose e 21,6 g/L de IPS com um valor de Brix 1,33 °B (verificado em laboratório), o Brix esperado nas formulações identificadas com a letra A é de 8,41. Contudo, este é um valor teórico, não correspondendo ao verdadeiro valor de Brix e tendo em conta as várias análises às várias formulações identificadas com a letra A a média do valor de Brix é de 8,91. Utilizando o intervalo de tolerância de $\pm 0,20$ °B, os valores de Brix das várias formulações identificadas com a letra A deverão variar entre 8,71 a 9,11 °B.

A variação das características físico-químicas, Brix e turvação devido à pasteurização é evidenciada pelos gráficos que se encontram representados nas Figuras 6.5. e 6.6. Os valores de Brix das formulações com 2% PSL apenas variaram significativamente com 95% de confiança devido ao efeito térmico para formulação A1. As restantes amostras pasteurizadas não apresentaram diferenças significativas em relação as amostras não pasteurizadas. Esta evidência significa que as reacções de conversão de açúcares e de caramelização não foram suficientemente significativas para se verificarem aumentos no valor de Brix do produto final.

Tabela 6.3 - Resultados das análises físico-químicas às cinco formulações com 2% PSL. Média \pm Desvio – padrão

Formulações	Antes da pasteurização		Após pasteurização			
	Brix (°B)	Turvação (NTU)	Brix (°B)	Turvação (NTU)	pH	Acidez (g/100 mL ACA)
A ₁ (2% proteína)	8,91 \pm 0,02	6,94 \pm 0,82	9,03 \pm 0,10	10,61 \pm 0,24	2,97 \pm 0,00	0,432 \pm 0,004
A ₂ (2% proteína)	8,83 \pm 0,02	6,26 \pm 0,24	8,80 \pm 0,02	9,52 \pm 0,62	2,87 \pm 0,01	0,518 \pm 0,012
B ₁ (2% proteína)	8,85 \pm 0,06	6,39 \pm 0,85	8,88 \pm 0,00	10,20 \pm 0,71	2,88 \pm 0,00	0,513 \pm 0,002
C ₁ (2% proteína)	8,72 \pm 0,01	6,12 \pm 0,41	8,72 \pm 0,01	10,61 \pm 1,08	2,85 \pm 0,01	0,526 \pm 0,001
A ₃ (2% proteína)	-	-	8,91 \pm 0,04	10,61 \pm 0,41	2,88 \pm 0,00	0,522 \pm 0,005
A ₄ (2% proteína)	-	-	8,90 \pm 0,02	10,34 \pm 0,24	2,86 \pm 0,00	0,522 \pm 0,005

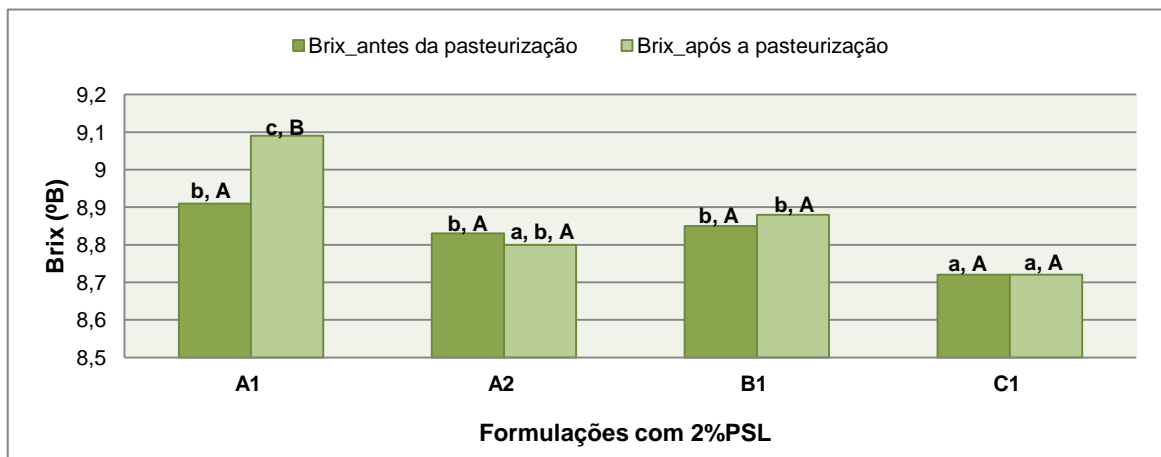


Figura 6.5 - Valores de Brix (°B) das formulações com 2% PSL antes e após a pasteurização.

a – d As médias com letras diferentes diferem significativamente ($P < 0.05$).

A – B As médias e o tratamento térmico com letras diferentes diferem significativamente ($P < 0.05$).

Já relativamente à turvação foram verificadas diferenças significativas com 95% de confiança, em todas as amostras pasteurizadas em relação às amostras da mesma formulação não pasteurizada. Estas diferenças dever-se-ão à diminuição da solubilidade das PSL com o aumento da temperatura. As

proteínas são desnaturadas pelo efeito da temperatura sobre as ligações não covalentes envolvidas na estabilização da estrutura secundária e terciária, por exemplo ligações de hidrogénio, hidrofóbicas e electrostáticas. Quando as estruturas secundárias e terciárias se desdobram, os grupos hidrofóbicos (ex, os grupos sulfitos -SH inicialmente dentro da moléculas de proteína) interagem e reduzem a ligação da água. As interações hidrofóbicas levam à agregação, seguido-se a coagulação e precipitação (Pelegrine e Gasparetto, 2005; Martini *et al.*, 2010).

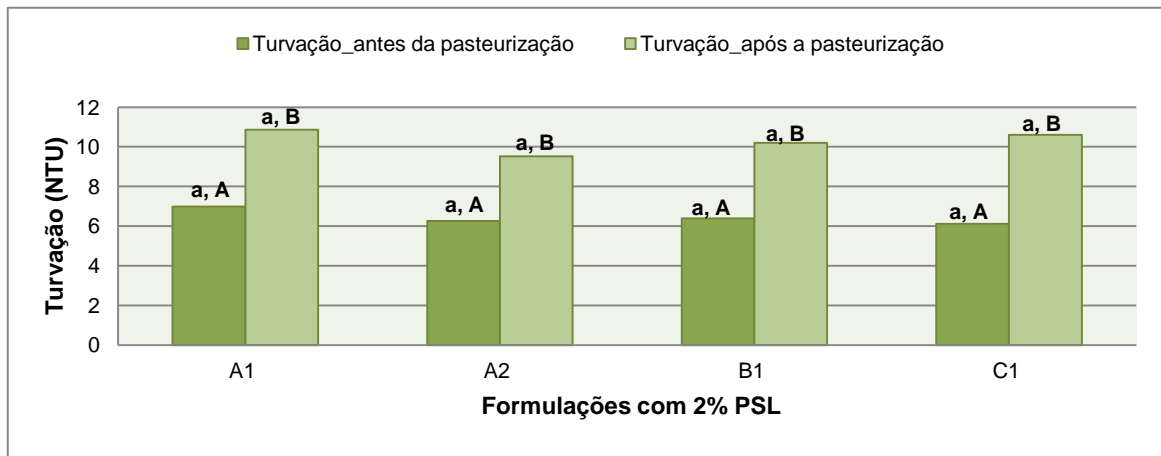


Figura 6.6 - Valores de turvação (NTU) das formulações com 2%PSL antes e após a pasteurização.

a – d As médias com letras diferentes diferem significativamente ($P < 0.05$).

A – B As médias e o tratamento térmico com letras diferentes diferem significativamente ($P < 0.05$).

A variação do Brix, turvação, pH e acidez titulável, para todas as formulações com 2% PSL (m/v), são evidenciadas pelos gráficos da Figuras 6.7. (Brix e turvação) e Figura 6.8. (pH e acidez titulável). Quanto à variação do Brix das várias formulações com 2% PSL (m/v) averiguaram-se diferenças estaticamente significativas (95% de confiança). A formulação C1 diferiu significativamente das restantes formulações à excepção da A2. Por sua vez, a formulação A1 apresentou diferenças significativas em relação a todas as formulações em termos de Brix. Contudo, as formulações A2, B1, A3 e A4 não manifestaram diferenças significativas entre si com 95% de confiança. Sendo de salientar que as formulações não extrapolaram o intervalo de tolerância (8,76 - 9,06 °B).

A turvação e a acidez titulável foram parâmetros que não variaram entre as várias formulações de PSL, à excepção da formulação A1, que apresentou diferenças significativas (95% de confiança) em termos de acidez titulável em relação às restantes formulações. Quanto à turvação, verificou-se que os valores de turvação são bastante inferiores ao valor de turvação percebido pelos consumidores (40 NTU). O pH, por sua vez, já apresentou algumas diferenças significativas (95% de confiança) entre as várias formulações, contudo os valores de pH não se situaram fora do intervalo de tolerância de $3,00 \pm 0,2$.

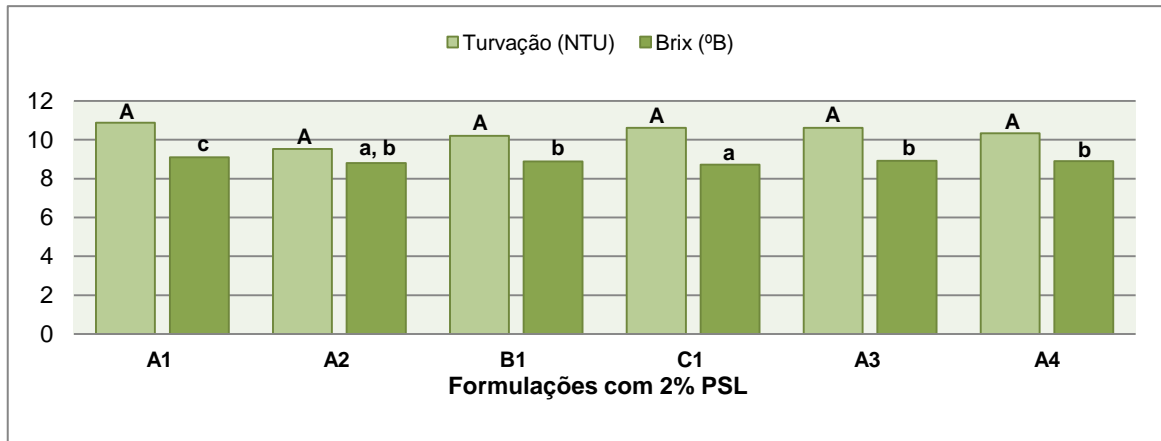


Figura 6.7 - Valores de Brix (°B) e turvação (NTU) de todas as formulações com 2% PSL.

a – e As médias com letras diferentes diferem significativamente ($P < 0.05$).

A – D As médias com letras diferentes diferem significativamente ($P < 0.05$).

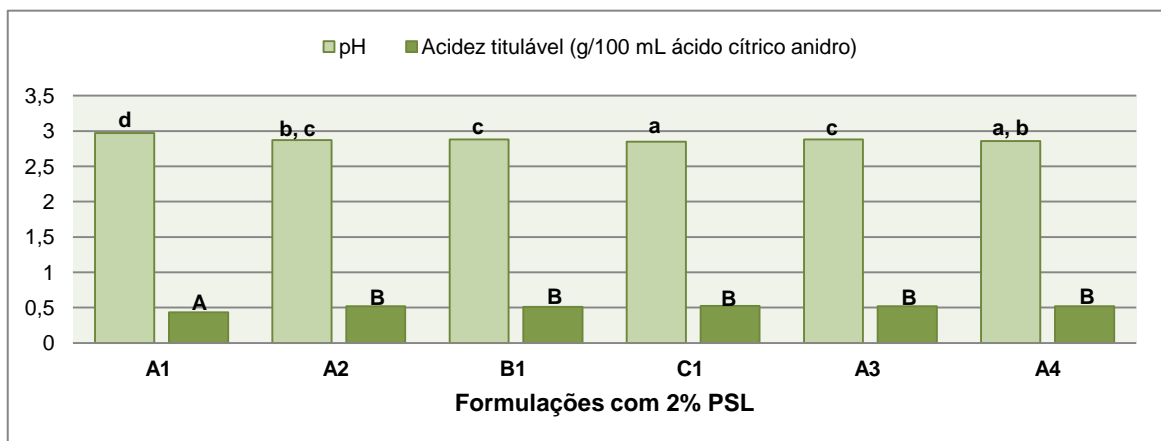


Figura 6.8 - Valores de pH e acidez titulável (g/100 mL ácido cítrico anidro) de todas as formulações com 2% PSL.

a – e As médias com letras diferentes diferem significativamente ($P < 0.05$).

A – D As médias com letras diferentes diferem significativamente ($P < 0.05$).

Na tabela 6.4 são apresentados os valores das características físico – químicas, para as formulações com 2% PSL analisadas pelo painel de provadores oficial, nos vários sabores. Sendo que nas Figuras 6.9, 6.10., 6.11. e 6.12, estão demonstradas as variações do Brix, turvação, pH e acidez titulável consoante a formulação e aroma, respectivamente.

Quanto ao parâmetro de Brix examinaram-se diferenças significativas (95% de confiança) nos vários sabores da formulação A2 (todos diferiram significativamente entre si), verificando-se também diferenças significativas nos vários sabores formulação A3 (os sabores de limão e laranja diferiram significativamente dos aromas tangerina e ananás-coco). Tendo em conta os aromas, as diferenças significativas só não foram verificadas para o aroma de laranja. Os restantes aromas manifestaram diferenças significativas em relação ao Brix da formulação A2 para a formulação A3. Porém as formulações não extrapolaram o intervalo de tolerância (8,71 - 9,11 °B).

Tabela 6.4 - Resultados das análises físico - químicas às formulações com 2% PSL sujeitas à análise sensorial pelo painel de provadores oficial, nos vários aromas. Média \pm Desvio - padrão

Formulações (2% PSL)	Aromas	Brix (°B)	Turvação (NTU)	pH	Acidez (g/100 mL ACA)
A ₂	Limão – Aroma modulador ₂	8,79 \pm 0,01	9,93 \pm 0,24	2,85 \pm 0,02	0,519 \pm 0,004
	Laranja	8,85 \pm 0,02	10,34 \pm 0,24	2,86 \pm 0,00	0,521 \pm 0,000
	Tangerina	8,84 \pm 0,02	14,96 \pm 0,47	2,86 \pm 0,00	0,525 \pm 0,002
	Ananás - Coco	8,94 \pm 0,01	9,66 \pm 0,24	2,85 \pm 0,00	0,524 \pm 0,002
A ₃	Limão – Aroma modulador ₂	8,91 \pm 0,04	10,61 \pm 0,41	2,88 \pm 0,00	0,522 \pm 0,005
	Laranja	8,88 \pm 0,02	10,47 \pm 0,24	2,88 \pm 0,01	0,517 \pm 0,001
	Tangerina	8,98 \pm 0,02	10,73 \pm 0,00	2,87 \pm 0,00	0,524 \pm 0,001
	Ananás – Coco	9,04 \pm 0,01	10,88 \pm 0,62	2,87 \pm 0,00	0,529 \pm 0,007

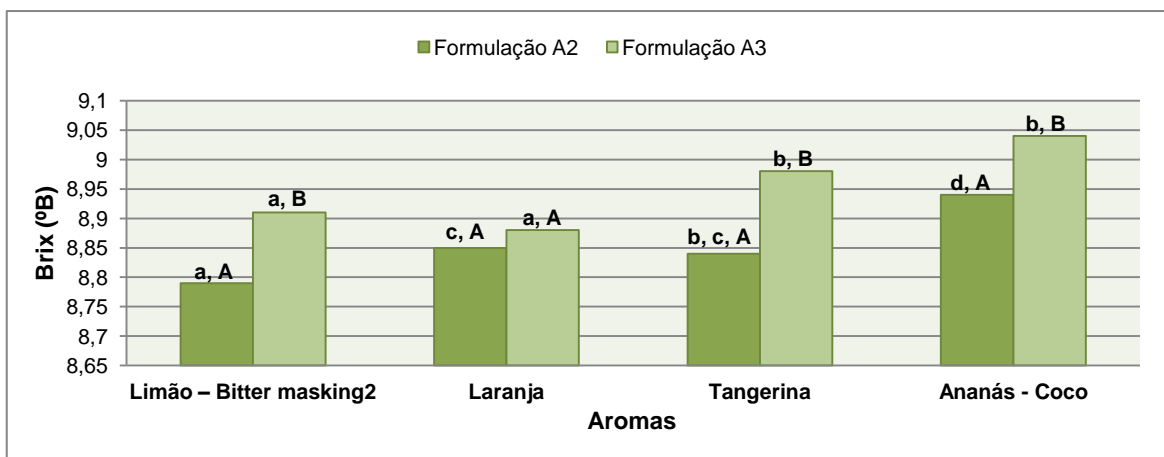


Figura 6.9 - Valores de Brix (°B) das formulações com 2% PSL, analisadas pelo painel de provadores oficial, nos vários aromas.

a – d As médias com letras diferentes diferem significativamente ($P < 0.05$).

A – B As médias com letras diferentes diferem significativamente ($P < 0.05$).

Quanto ao parâmetro turvação verificam-se diferenças significativas (95% de confiança) da formulação A2 no sabor tangerina em relação aos outros sabores. Averiguando-se também diferenças significativas no aroma de tangerina na formulação A3 em relação aos outros aromas. Tendo em conta os aromas, as diferenças significativas só não foram verificadas para o aroma de laranja. Denote-se que os valores de turvação são bastante inferiores aos valores de 40 NTU. A maior turvação verificada com o aroma de tangerina poderá dever-se ao facto deste aroma ser do tipo não dispersável em água. Este tipo de aroma é introduzido sob a forma de emulsão, em que a fase do componente de óleo (geralmente cítrica como a laranja e limão ou óleos de terpenos da mesma fonte) são dissolvidas num agente de

estabilização adequado (fase aquosa), de modo a que as substâncias aromatizantes à base de óleo sejam incorporadas sob uma forma solúvel. A fase aquosa é complementar à fase de óleo, em que os componentes hidrocoloidais da primeira fornecem uma zona tampão de protecção ao redor de cada gota de óleo. Qualquer falha nesta zona tampão poderá levar a uma menor solubilização do aroma e conseqüentemente, a um aumento da turvação da bebida.

Os valores de pH apenas mostraram diferenças significativas (95% de confiança) da formulação A2 para a formulação A3 nos diferentes aromas. Sendo de referir que os valores de pH não se encontraram fora do intervalo de tolerância de $3,00 \pm 0,2$. Por último, a acidez titulável, tal como o pH apenas apresentou diferenças significativas (95% de confiança) da formulação A2 para a formulação A3 nos diferentes aromas.

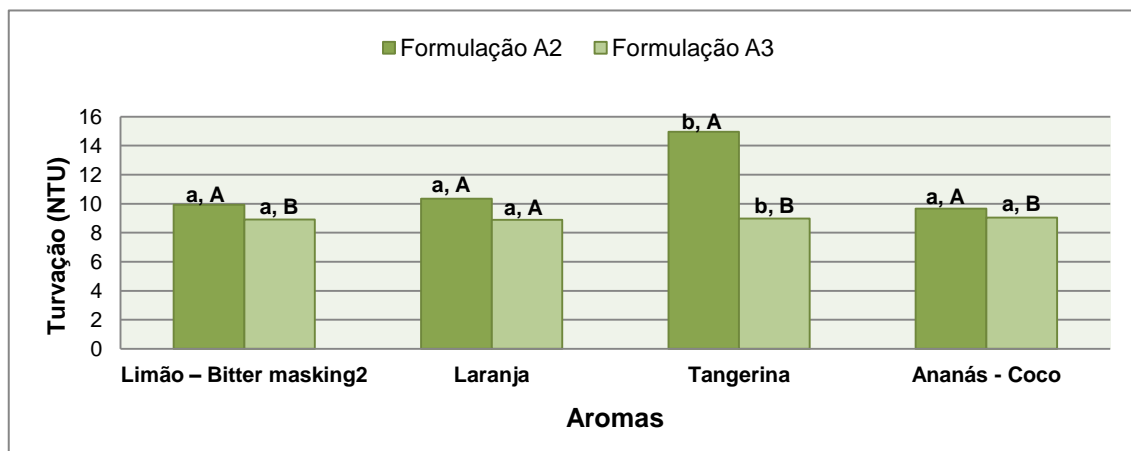


Figura 6.10 - Valores de turvação (NTU) das formulações com 2% PSL, analisadas pelo painel de provadores oficial, nos vários aromas.

a - d As médias com letras diferentes diferem significativamente ($P < 0.05$).

A - B As médias com letras diferentes diferem significativamente ($P < 0.05$).

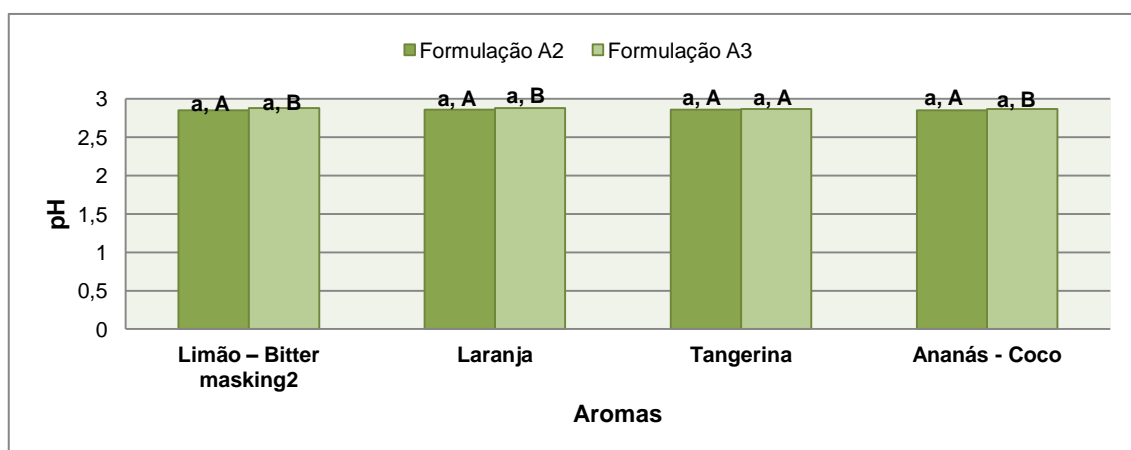


Figura 6.11 - Valores de pH das formulações com 2% PSL, analisadas pelo painel de provadores oficial, nos vários aromas.

a - d As médias com letras diferentes diferem significativamente ($P < 0.05$).

A - B As médias com letras diferentes diferem significativamente ($P < 0.05$).

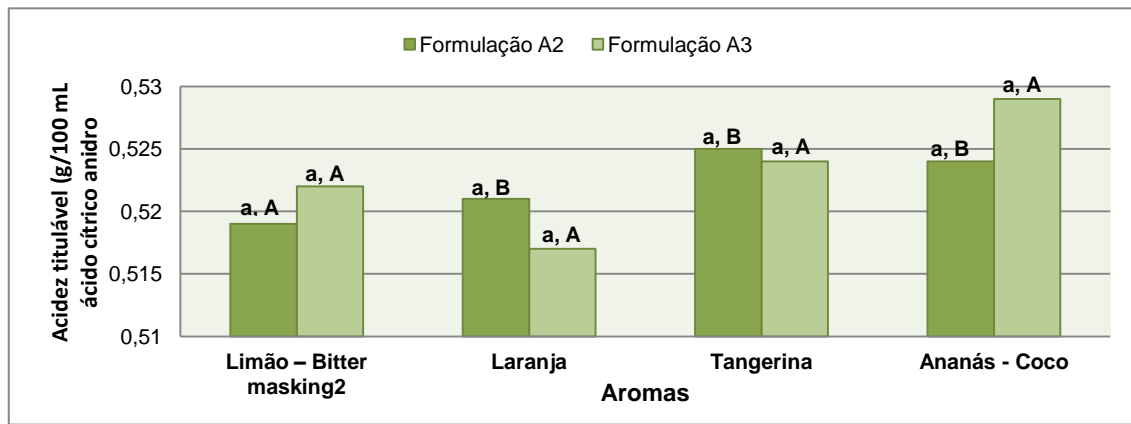


Figura 6.12 - Valores de acidez titulável (g/100 mL ácido cítrico anidro) das formulações com 2% PSL, analisadas pelo painel de provadores oficial, nos vários aromas.

a – d As médias com letras diferentes diferem significativamente ($P < 0.05$).

A – B As médias com letras diferentes diferem significativamente ($P < 0.05$).

2.3. Formulações com 5% proteínas de soro de leite

As formulações com 5% PSL foram analisadas quanto ao Brix e turvação antes da pasteurização, e após a pasteurização foram analisadas quanto ao Brix, turvação, pH e acidez titulável (expressa em ácido cítrico anidro). Só nas formulações iniciais é que foi estudado o impacto do tratamento térmico sobre a turvação e Brix das bebidas. Os resultados das análises físico – químicas encontram-se na Tabela 6.5.

Tabela 6.5 - Resultados das análises físico - químicas às cinco formulações com 5% PSL. Média \pm Desvio – padrão

Formulações (5% PSL)	Antes da pasteurização		Após pasteurização			
	Brix (°B)	Turvação (NTU)	Brix (°B)	Turvação (NTU)	pH	Acidez (g/100 mL ACA)
A ⁺ ₁	12,01 \pm 0,03	20,00 \pm 0,04	12,14 \pm 0,03	48,56 \pm 0,07	2,96 \pm 0,00	0,821 \pm 0,001
A ⁺ ₃	-	-	11,96 \pm 0,06	40,81 \pm 0,62	3,04 \pm 0,01	0,764 \pm 0,002
B ⁺ ₃	-	-	12,00 \pm 0,09	42,17 \pm 0,24	2,96 \pm 0,01	0,834 \pm 0,002
C ⁺ ₃	-	-	11,93 \pm 0,03	38,36 \pm 0,41	3,03 \pm 0,00	0,769 \pm 0,003
C ⁺ ₄	-	-	11,97 \pm 0,01	48,02 \pm 0,62	2,89 \pm 0,00	0,874 \pm 0,001

Tendo em conta que se utilizou 56,5 g/L de xarope de sacarose a 62°Brix, 25 g/L de frutose e 54,0 g/L de IPS com um valor de brix 1,33 °B (verificado em laboratório), o Brix esperado nas formulações identificadas com a letra A é de 12,09. Contudo, este é um valor teórico, não

correspondendo ao verdadeiro valor de Brix e tendo em conta as várias análises às várias formulações identificadas com a letra A⁺ a média do valor de Brix será de 12,00. Utilizando o intervalo de tolerância de $\pm 0,20$ °B, os valores de Brix das várias formulações identificadas com a letra A deverão variar entre 11,80 a 12,20 °B.

A variação das características físico-químicas, Brix e turvação devido à pasteurização é evidenciada pelos gráficos que se encontram representados nas Figuras 6.13. e 6.14. Tanto o Brix como a turvação variaram significativamente (95% confiança) com a acção do tratamento térmico pelos motivos já referidos nas formulações de 2% PSL.

A variação do Brix, turvação, pH e acidez titulável, para todas as formulações com 5% PSL, são evidenciadas pelos gráficos da Figuras 6.15. (Brix e turvação) e Figura 6.16. (pH e acidez titulável). Relativamente ao Brix, apenas a formulação A⁺₁ diferiu significativamente das restantes formulações, mas sem extrapolação do intervalo de tolerância do Brix. Já a turvação variou significativamente de formulação para formulação, sendo que apenas as formulações A⁺₁ e C⁺₄ não apresentaram diferenças significativas com 95% de confiança. Os valores de turvação foram todos ligeiramente superiores a 40 NTU, mas inferiores a 50 NTU, pelo que apenas os consumidores mais atentos perceberiam esta existência de turvação.

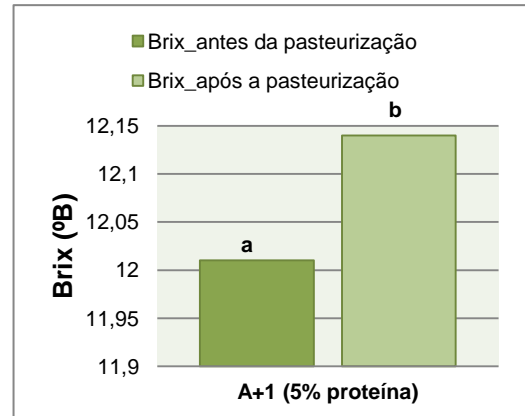


Figura 6.13 - Valores de Brix (°B) da formulação com 5% PSL antes e após a pasteurização.

a - b As médias com letras diferentes diferem significativamente ($P < 0.05$).

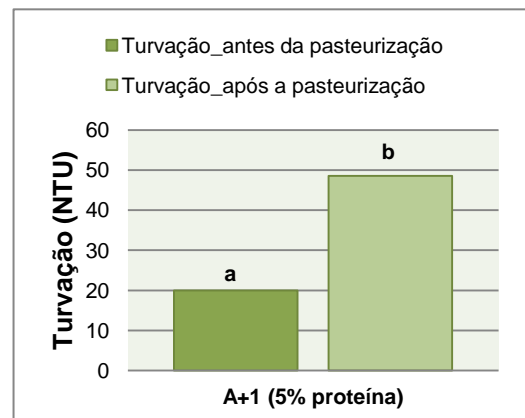


Figura 6.14 - Valores de turvação (NTU) da formulação com 5% PSL antes e após a pasteurização.

a - b As médias com letras diferentes diferem significativamente ($P < 0.05$).

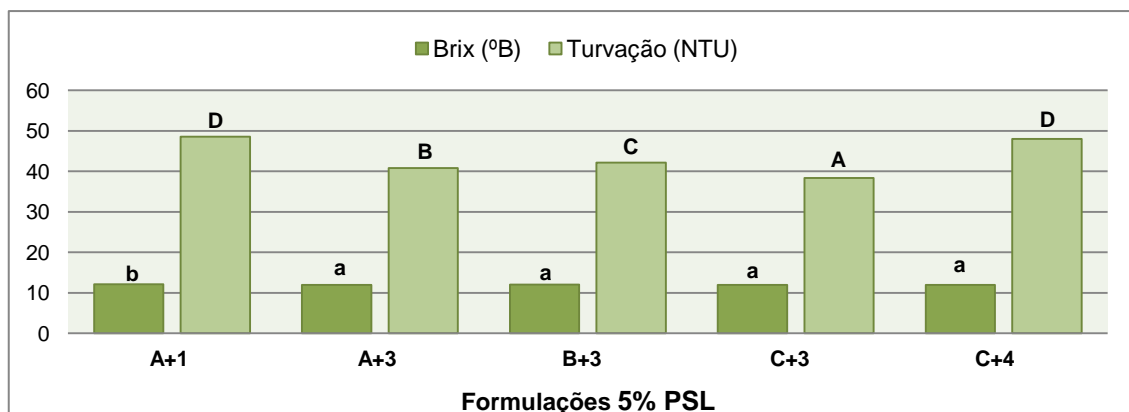


Figura 6.15 - Valores de Brix (°B) e turvação (NTU) das formulações com 5% PSL.

a - d As médias com letras diferentes diferem significativamente ($P < 0.05$).

A - B As médias e o tratamento térmico com letras diferentes diferem significativamente ($P < 0.05$).

Os valores de acidez titulável, assim como os valores de pH variaram significativamente entre si (95 % confiança). Mas os valores de pH não ultrapassaram o intervalo de tolerância do pH $3,0 \pm 0,2$.

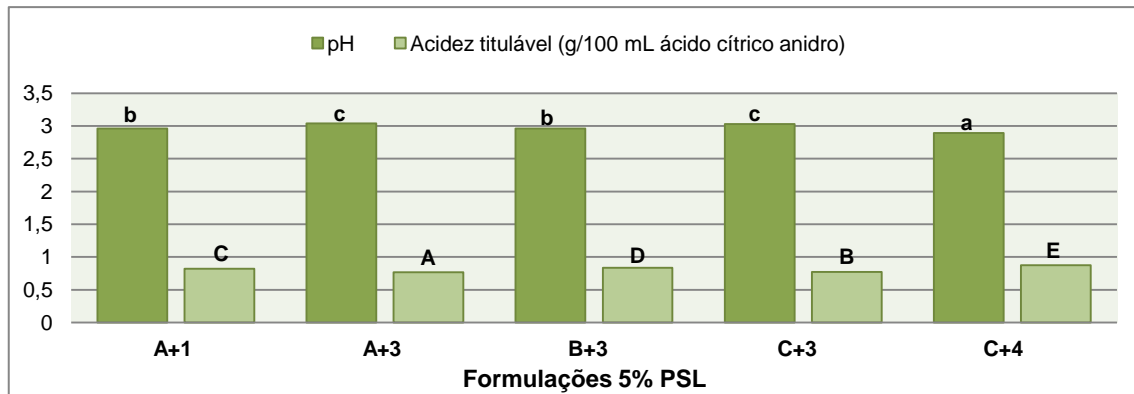


Figura 6.16 - Valores de pH e acidez titulável (g/100 mL ácido cítrico anidro) das formulações com 5% PSL.

a – d As médias com letras diferentes diferem significativamente ($P < 0,05$).

A – B As médias e o tratamento térmico com letras diferentes diferem significativamente ($P < 0,05$).

Na tabela 6.6 são apresentados os valores das características físico-químicas para a última formulação com 5% PSL, nos vários sabores, sendo que nas Figuras 6.17 e 6.18., estão demonstradas as variações do Brix, turvação, pH e acidez titulável consoante o aroma, respectivamente.

Os parâmetros físico-químicos da formulação B_4^+ não divergiram muito significativamente de aroma para aroma. O Brix apenas apresentou diferenças significativas (95% confiança) relativamente ao aroma de ananás-coco, embora sem sair do intervalo de tolerância (11,80 – 12,20 °B). Quanto à turvação, o aroma de tangerina foi a única amostra que apresentou diferenças significativas (95% confiança) relativamente aos restantes aromas. O pH não exibiu diferenças significativas (95% confiança) e os valores de pH da formulação nos diferentes aromas não extrapolaram o intervalo de tolerância $3,0 \pm 0,2$. Por último, no caso da acidez titulável verificou-se diferenças significativas (95% confiança) dos aromas de limão e laranja em relação aos aromas de tangerina e ananás-coco.

Tabela 6.6 - Resultados das análises físico - químicas à formulações com B_4^+ (5% PSL) nos vários aromas. Média \pm Desvio – padrão.

	Aromas	Brix (°B)	Turvação (NTU)	pH	Acidez (g/100 mL ACA)
Formulação B_4^+ (2% proteína)	Limão – Aroma modulador ₂	11,97 \pm 0,01	48,02 \pm 0,62	2,89 \pm 0,00	0,874 \pm 0,001
	Laranja	12,06 \pm 0,03	48,43 \pm 0,24	2,89 \pm 0,00	0,873 \pm 0,002
	Tangerina	12,04 \pm 0,01	57,54 \pm 0,41	2,89 \pm 0,00	0,886 \pm 0,004
	Ananás – Coco	12,18 \pm 0,08	48,29 \pm 0,85	2,89 \pm 0,00	0,880 \pm 0,001

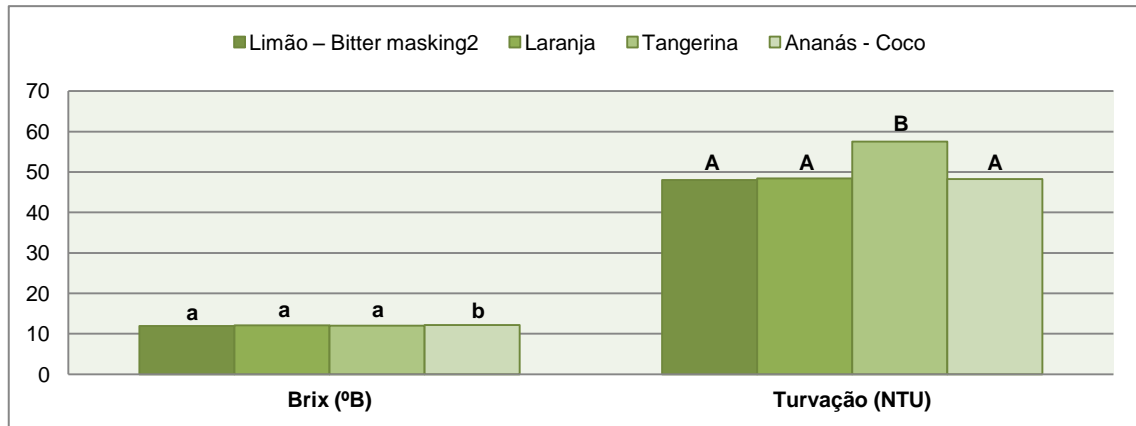


Figura 6.17 - Valores de Brix (°B) e turvação (NTU) das formulações com 5% PSL nos vários aromas.

a – d As médias com letras diferentes diferem significativamente ($P < 0.05$).

A – D As médias com letras diferentes diferem significativamente ($P < 0.05$).

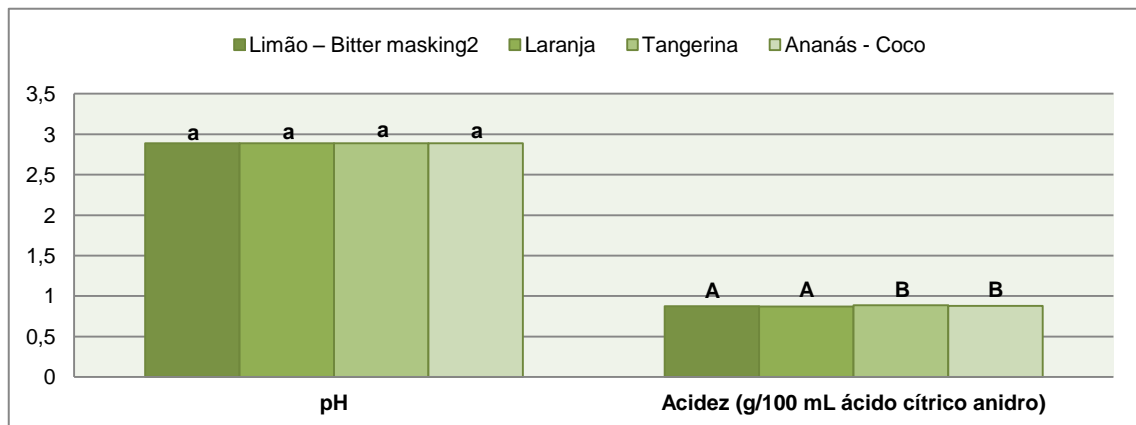


Figura 6.18 - Valores de pH e acidez titulável (g/100 mL ácido cítrico anidro) das formulações com 5% PSL nos vários aromas.

a – d As médias com letras diferentes diferem significativamente ($P < 0.05$).

A – D As médias com letras diferentes diferem significativamente ($P < 0.05$).

2.4. Comparação das formulações com 2% proteínas de soro de leite e 5% proteínas de soro de leite

As PSL têm comportamentos em termos funcionais mais pronunciados quando são utilizadas em maiores concentrações, sendo possível verificar diferenças nas propriedades físico-químicas das bebidas. As formulações A_1 e A_1^+ só diferem entre si na concentração de PSL utilizada, assim como as formulações A_3 e A_3^+ . As propriedades das formulações A_1 e A_1^+ e das formulações A_3 e A_3^+ são evidenciadas pela Tabela 6.7.

Ao analisar-se a tabela 6.7. verifica-se que existem diferenças bastante significativas relativamente ao Brix, turvação e acidez. De modo a evidenciar essas variações foi construído um gráfico

radial (Figura 6.19) em que são relacionadas as várias características físico-químicas das bebidas Brix (°B), turvação (NTU), pH e acidez titulável (g/100 mL ácido cítrico anidro) das formulações A₁, A⁺₁, A₃ e A⁺₃.

Tabela 6.7 - Resultados das análises físico - químicas das formulações A₁, A⁺₁, A₃ e A⁺₃. Média ± Desvio – padrão.

Formulações	Brix (°B)	Turvação (NTU)	pH	Acidez (g/100 mL ACA)
A ⁺ ₁ (5% PSL)	12,14 ± 0,03	48,56 ± 0,07	2,96 ± 0,00	0,821 ± 0,001
A ⁺ ₃ (5% PSL)	11,96 ± 0,06	40,81 ± 0,62	3,04 ± 0,01	0,764 ± 0,002
A ₁ (2% PSL)	8,91 ± 0,04	10,61 ± 0,41	2,88 ± 0,00	0,522 ± 0,005
A ₃ (2% PSL)	9,03 ± 0,10	10,61 ± 0,24	2,97 ± 0,00	0,432 ± 0,004

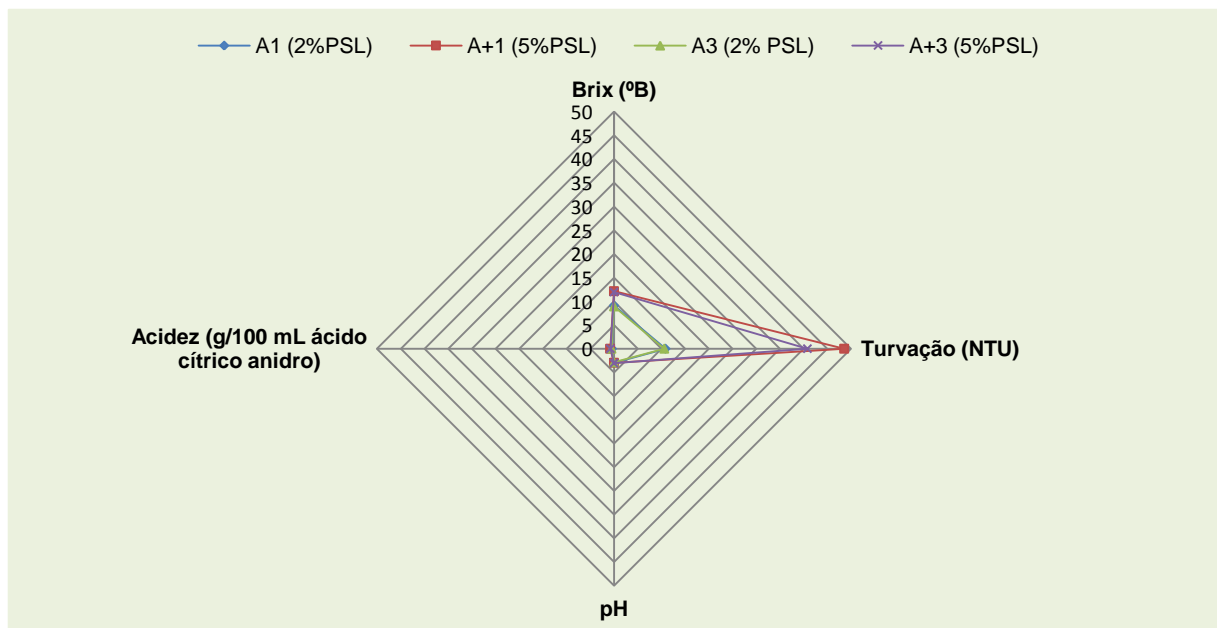


Figura 6.19 - Variação dos factores físico - químicos da bebida conforme a concentração de proteínas de soro de leite.

As maiores diferenças em termos de propriedades físico-químicas foram presenciadas relativamente à turvação, que quadruplicou para as amostras de bebidas com 5% PSL em relação às bebidas com 2% PSL. Contudo, a acidez também quase duplicou quando se utilizou uma maior quantidade de proteína.

O grande aumento de turvação é explicado pela maior quantidade de proteína disponível para ser desnaturada pela acção do calor. Com maiores concentrações de proteína, formam-se maiores quantidades de agregados insolúveis pela acção térmica que funcionam como locais de deposição de

proteína solúvel. Logo formam-se maiores agregados de proteína, que se traduzem num aumento de turvação.

Apesar da bebida de 5% PSL (m/v) ter sido formulada a valores de pH ácido, tal como a bebida de 2% PSL (m/v), maiores cuidados terão de ser tidos em conta para evitar a formação de turvação. Uma possível solução seria a utilização de compostos que inibam a agregação, quer por estabilização das proteínas contra a desnaturação, ou impedindo a agregação de proteínas já desnaturadas, pelo que se devem adicionar compostos que impeçam a desnaturação das proteínas e/ou a subsequente agregação das mesmas (Laclair e Etzel, 2010).

Segundo Laclair e Etzel (2010), uma possível solução seria o recurso a álcoois de açúcar de baixo PM. Os álcoois estabelecem interações com as cadeias laterais das proteínas, que são possivelmente mais favoráveis do que as interações proteína - proteína, e portanto, o fenómeno de agregação de proteínas é reduzido. Nomeadamente, álcoois de açúcar como o xilitol, sorbitol, eritritol e manitol têm um PM < 200 g/mol e a sua adição numa concentração de 100 g/L reduziu a turvação em cerca 50%. Por sua vez, os álcoois de açúcar maltitol, lactitol, e isomalte têm um PM de 344 g/mol e a redução da turvação foi < 50% quando adicionados na mesma concentração de 100 g/L reduziu a turvação em cerca de 50%. Já, os álcoois de açúcar malitol, lactitol e isomalte têm um PM de 344 g/mol e a redução da turvação foi < 50% quando adicionados na mesma concentração. Estes ensaios foram efectuados em soluções com 2,5% PSL e a pH 4,0. Os álcoois de açúcar têm ainda a vantagem adicional de conterem menos calorías por grama (1,5 - 3 kcal/g) que os açúcares (4 kcal/g), e alguns são igualmente doces (Laclair e Etzel, 2010).

Outra possível solução seria a adição de aminoácidos. Aminoácidos como a prolina, glutamina e asparagina reduzem significativamente a turvação, após o tratamento térmico a pH 4,0. A agregação é provavelmente suprimida pela adição de prolina devido a uma interacção entre a prolina e aminoácidos hidrofóbicos expostos durante o tratamento térmico. A prolina actua como um chaperone protéico de dobramento para proteínas desnaturadas e proteínas dissulfito reduzidas e pode impedir completamente a agregação da proteína (Laclair e Etzel, 2010).

A glutamina, bem como outros aminoácidos hidrofílicos, reduzem a agregação induzida pelo calor da lisozima mais eficazmente do que aminoácidos hidrofóbicos. Além disso, a adição de compostos com um maior número de grupos amina suprime a agregação induzida pelo calor da lisozima, provavelmente através de uma desestabilização da proteína nativa e solubilização do estado desnaturado, impedindo a agregação. A glutamina e asparagina são ambos aminoácidos hidrofílicos que contém dois grupos amina (Laclair e Etzel, 2010).

A glutamina é de especial interesse neste tipo de bebidas, porque a glutamina apresenta propriedades funcionais de extrema importância para os atletas. Este aminoácido não-essencial é um combustível essencial ao sistema imunológico, replicação celular e muitas outras funções indispensáveis. Há evidências que sugerem que em períodos de stress metabólico intenso, como o treino físico se pode exceder a capacidade do corpo para sintetizar glutamina, o que pode levar a uma

função imune prejudicada, doenças recorrentes, infecções e performance pobre prolongada. Além disso, como a glutamina actua como reserva energética para as células em divisão, qualquer sinal de escassez deste AA pode significar uma redução do crescimento muscular e um aumento da degradação muscular, o que significa uma maior fadiga para o atleta. Em suma, a utilização da glutamina na formulação da bebida com 5% PSL poderia reduzir a turvação, ao mesmo que as propriedades nutricionais da bebida são incrementadas (Cribb *et al.*, 2005).

O maior aumento de acidez verificado nas bebidas com 5% PSL em relação às bebidas com 2% PSL deveu – se essencialmente ao elevado poder tampão das PSL. As quantidades de ácido utilizadas nas bebidas de 5% PSL são superiores (3,3 g/L) que as utilizadas nas bebidas de 2% PSL (2,6 g/L). Sendo de salientar que as diferenças de quantidade não foram ainda maiores porque em termos de formulação, será preferido um menor valor de pH ($\approx 2,85$) para as bebidas de 2% PSL em relação às bebidas de 5% PSL ($\approx 3,00$). Além disso, de acordo com estudos anteriores a acidez das PSL aumenta em proporção à concentração de proteína, enquanto diminui a aceitação do consumidor (Kelly *et al.*, 2010).

2.5. Ensaio de estabilidade

O ensaio de estabilidade foi efectuado para determinar a variação das características sensoriais e físico-químicas ao longo do tempo e quando sujeito a diferentes temperaturas. Na tabela 6.8 estão apresentados os resultados das características físico-químicas ao longo do ensaio de estabilidade. A variação de cada uma das características físico-químicas analisadas são apresentadas pelos gráficos 6.20, 6.21, 6.22 e 6.23 para o Brix ($^{\circ}\text{B}$), turvação (NTU), pH e acidez titulável (g/100 mL ácido cítrico anidro), respectivamente.

A propriedade físico-química Brix aumentou ao longo do tempo a uma determinada temperatura, mas sem diferenças significativas (95% confiança) quando se fixa o parâmetro temperatura. Os valores de Brix na semana 0 e nas primeiras semanas de cada temperatura não apresentaram diferenças significativas entre si (95% confiança), tal como esperado. Além disso, os valores de Brix encontraram-se todos dentro do intervalo de tolerância estipulado ($8,91 \pm 0,15$ $^{\circ}\text{B}$).

A turvação (NTU) aumentou lentamente com a temperatura e com o tempo de armazenamento. O valor da turvação da semana 0 (10,61 NTU) em relação à 4^o semana a 47 $^{\circ}\text{C}$ (26,87 NTU) aumentou para mais do dobro. Todavia, o maior valor de turvação verificado (4^o semana a 47 $^{\circ}\text{C}$) não é percebido pelo consumidor.

O aumento da turvação com o aumento do tempo de armazenamento já era esperado. Num estudo efectuado por Laclair e Etzel (2009) verificou – se o aumento da turvação das amostras de bebidas de pH ácido filtradas e não – filtradas após o processamento térmico com o aumento do tempo

de armazenamento. Esses resultados foram atribuídos à conversão lenta de proteína solúvel em agregados de proteínas durante o armazenamento. As amostras que foram filtradas para remover os agregados de proteínas formados durante a etapa de tratamento térmico retiveram mais proteína solúvel do que as amostras não filtradas durante o armazenamento, mas a percentagem de proteína solúvel inicial não foi diferente. Estes resultados foram explicados pela hipótese de que os agregados formados na etapa de aquecimento actuam como sítios de nucleação para a deposição de proteína desnaturada durante o período de armazenamento, mas que esses locais reactivos vão desaparecendo, dentro de um curto período de tempo após o aquecimento (Laclair e Etzel, 2009).

De acordo com Roberts (2003), os agregados apenas crescem até um tamanho máximo ser atingido e a partir daí os agregados não participam mais nas reacções de agregação, devido à diminuição da solubilidade, acabando por se depositarem (Roberts, 2003). Além disso, verificou-se que os agregados de proteínas são formados mais rapidamente durante o armazenamento a 40 °C do que a 35 °C. Assim, à medida que a concentração de agregados de proteínas aumenta, aumenta a turvação e a concentração de proteína solúvel diminuiu. O aumento da turvação está assim, relacionado com a presença de agregados de proteínas, e portanto, a concentração de agregados de proteínas deve permanecer baixo nas bebidas para manter uma clareza aceitável durante o armazenamento.

Tabela 6.8 - Resultados das análises físico-químicas das amostras submetidas ao ensaio de estabilidade Média ± Desvio – padrão.

	Temperaturas	Brix	Turvação	pH	Acidez
Semana 0	-	8,67 ± 0,02	10,61 ± 0,71	3,01 ± 0,00	0,409 ± 0,002
Semana 1	27 °C	8,68 ± 0,01	11,29 ± 0,47	2,99 ± 0,00	0,411 ± 0,001
	37 °C	8,71 ± 0,02	14,28 ± 0,41	3,02 ± 0,00	0,411 ± 0,001
	47 °C	8,72 ± 0,02	17,41 ± 0,24	3,01 ± 0,00	0,409 ± 0,001
Semana 2	27 °C	8,71 ± 0,01	11,52 ± 0,17	3,06 ± 0,00	0,412 ± 0,001
	37 °C	8,77 ± 0,01	15,13 ± 0,10	3,08 ± 0,00	0,410 ± 0,001
	47 °C	8,81 ± 0,01	20,91 ± 0,08	3,11 ± 0,00	0,409 ± 0,001
Semana 3	27 °C	8,73 ± 0,02	12,54 ± 0,02	3,05 ± 0,00	0,410 ± 0,000
	37 °C	8,80 ± 0,02	16,51 ± 0,02	3,08 ± 0,00	0,409 ± 0,000
	47 °C	8,81 ± 0,02	23,74 ± 0,06	3,11 ± 0,00	0,409 ± 0,001
Semana 4	27 °C	8,74 ± 0,02	12,35 ± 0,12	3,05 ± 0,00	0,414 ± 0,003
	37 °C	8,81 ± 0,01	17,90 ± 0,32	3,09 ± 0,00	0,410 ± 0,001
	47 °C	8,83 ± 0,01	26,87 ± 0,06	3,11 ± 0,00	0,410 ± 0,000

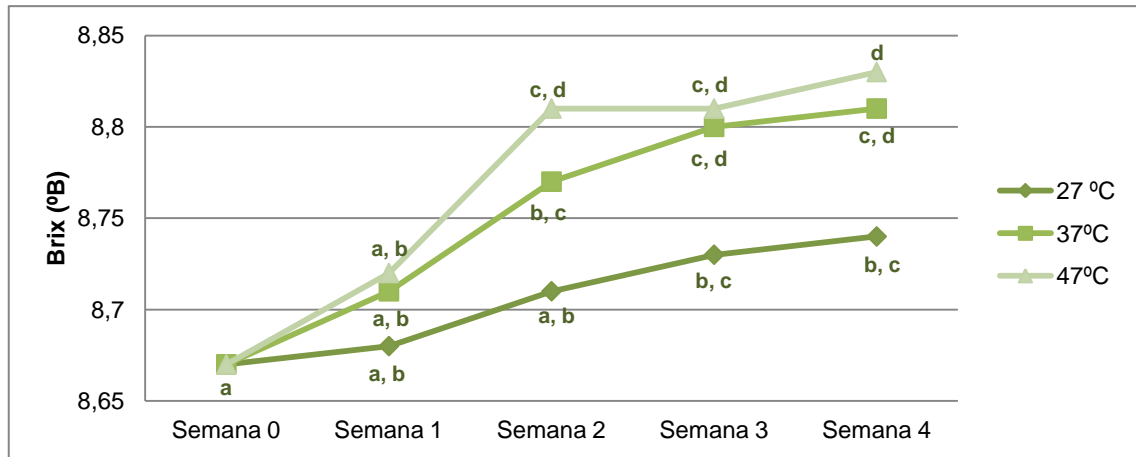


Figura 6.20 - Variação do Brix (°B) ao longo do ensaio de estabilidade.

a – d As médias com letras diferentes diferem significativamente ($P < 0.05$).

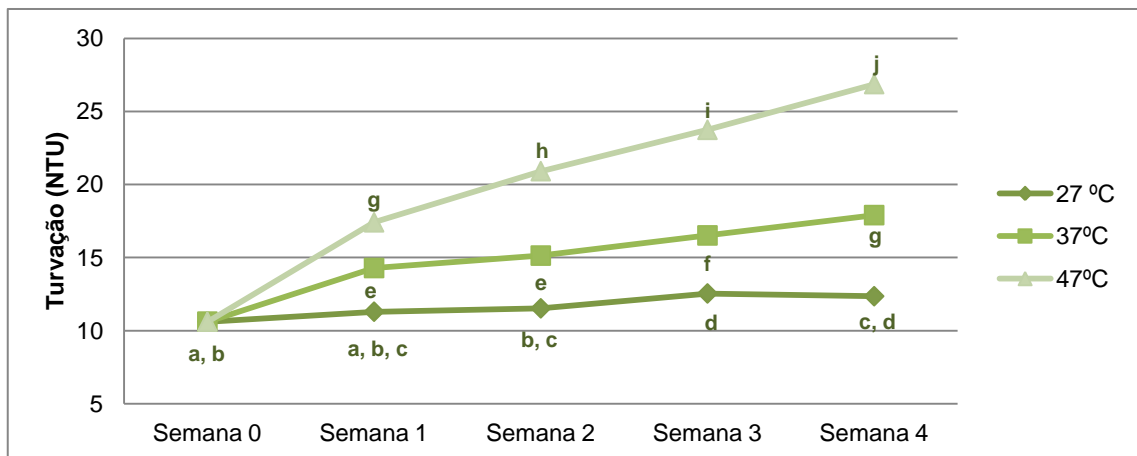


Figura 6.21. - Variação da turvação (NTU) ao longo do ensaio de estabilidade.

a – d As médias com letras diferentes diferem significativamente ($P < 0.05$).

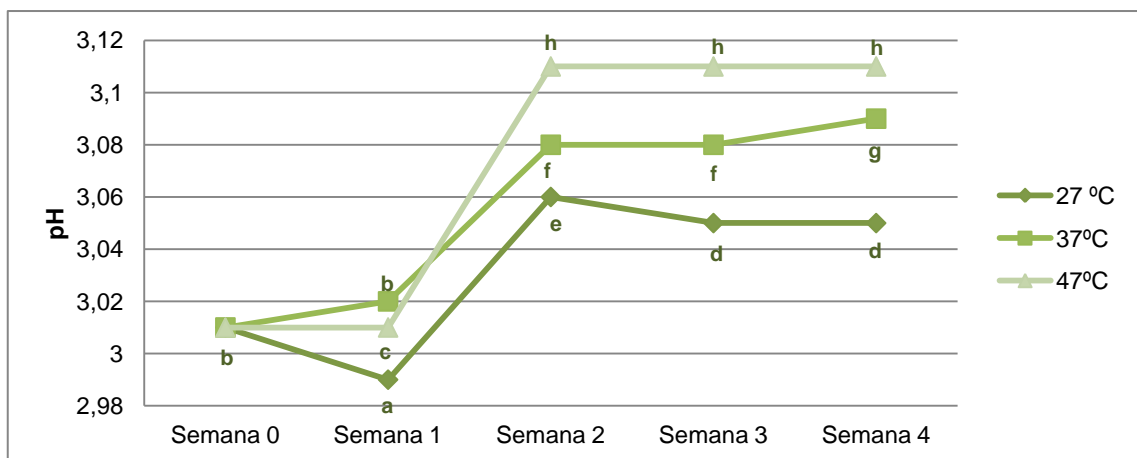


Figura 6.22 - Variação do pH ao longo do ensaio de estabilidade.

a – d As médias com letras diferentes diferem significativamente ($P < 0.05$).

O parâmetro pH apresentou algumas diferenças significativas (95% confiança) entre as várias amostras e vai aumentando ligeiramente ao longo do tempo a uma determinada temperatura. Os maiores valores de pH verificados são à temperatura de 47°C, sem diferenças no valor de pH para as várias semanas à excepção da primeira semana. O pH aumenta de 3,01 (1ª semana) para 3,11 (1ª, 2ª e 3ª semana). Os valores de pH verificados para as várias amostras não extrapolaram o intervalo de pH estipulado ($3,0 \pm 0,2$).

As amostras sujeitas ao ensaio de estabilidade não mostraram diferenças significativas (95% confiança) relativamente ao parâmetro acidez titulável. Apenas a amostra sujeita à temperatura de 27°C durante 4 semanas é que exibiu diferenças significativas (95% confiança) relativamente às restantes amostras.

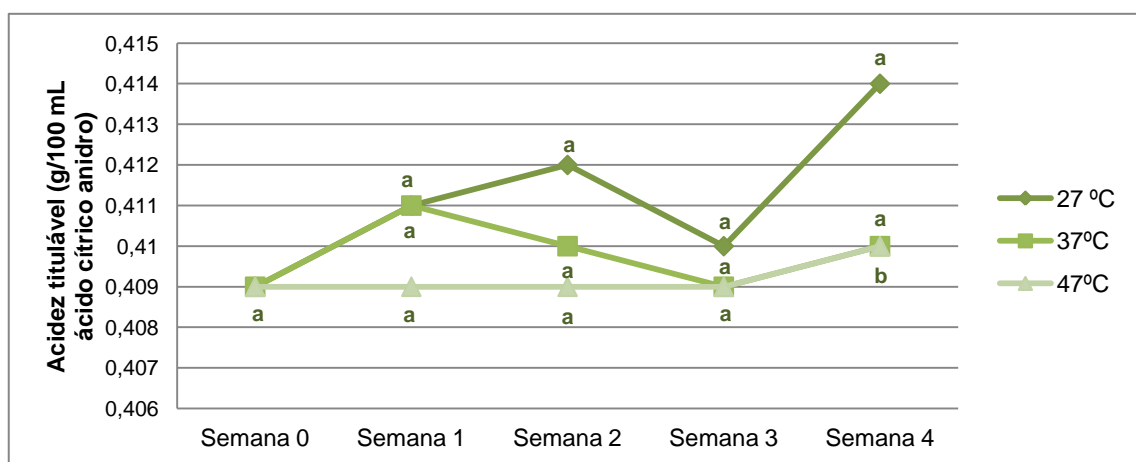


Figura 6.23 - Variação da acidez titulável (g/100 mL ácido cítrico anidro) ao longo do ensaio de estabilidade.

a – b As médias com letras diferentes diferem significativamente ($P < 0,05$).

3. Formulação do pó

A formulação do pó efervescente foi conseguida através da mistura directa dos componentes efervescentes (bicarbonato de sódio, ácido cítrico e ácido tartárico) e a quantidade de IPS necessária para se obter uma bebida de 5% PSL a partir de uma bebida de 2% PSL.

O parâmetro físico-químico avaliado foi o pH, pois era a propriedade da bebida que poderia variar por acção da reacção ácido-base origina a efervescência. O branco corresponde à bebida com 2% PSL, o controlo corresponde à adição directa de apenas a quantidade de proteína à bebida de 2% PSL de modo a obter a bebida com 5% PSL. Os resultados da análise do pH são evidenciados na Tabela 6.9.

Das várias proporções dos componentes efervescentes, as identificadas com as letras E e G foram as que apresentaram valores de pH mais próximos do valor de pH pretendido para a bebida. Posteriormente, procedeu-se ao aumento das quantidades dos componentes efervescentes destas

proporções para tentar aumentar a efervescência e conseqüentemente a dissolução das PSL. Contudo, o IPS é um pó bastante fino e pouco denso, e é necessária uma quantidade bastante grande deste para formular o suplemento. Esta baixa densidade levantou alguns problemas aquando da adição deste suplemento à bebida numa garrafa de água, e tal como indicado por Rau *et al.* (2010), o pó manteve-se à superfície, fazendo com que a bebida transbordasse para fora do recipiente (Rau *et al.* 2010).

Assim, a simples adição dos ingredientes efervescentes ao IPS de forma a formar um pó efervescente não é solução. Contudo, a proporção que apresentou melhores resultados foi a identificada por E₃ (Figura 6.24).

A formulação de pastilhas seria bastante interessante, mas estas teriam de ser imensamente grandes (≈ 18 g), o que aumentaria o tempo de dissolução. A melhor solução poderiam ser “mini – pastilhas”, em que cada uma possuía a quantidade de 1% proteína (≈ 6 g) para uma dose de 500 mL. Para se obter a bebida com 5% proteína teria de se adicionar 3 pastilhas à bebida de 2% PSL. A formulação de grânulos efervescentes também poderia ser outra solução.

Tabela 6.9 – Resultados da medição do pH das soluções de bebida 2% PSL com as várias formulações de pó efervescente (Ensaio com 250 mL de bebida). Média \pm Desvio – padrão.

Amostras	pH
Branco	2,85 \pm 0,01
Controlo	2,92 \pm 0,00
A ₁	3,10 \pm 0,00
B ₁	3,04 \pm 0,00
C ₁	3,03 \pm 0,00
D ₁	3,11 \pm 0,01
E ₁	2,95 \pm 0,00
F ₁	3,11 \pm 0,00
G ₁	2,96 \pm 0,00
H ₁	3,01 \pm 0,00
E ₂	3,09 \pm 0,00
E ₃	3,07 \pm 0,00
E ₄	3,02 \pm 0,00
G ₂	3,12 \pm 0,00
G ₃	3,2 \pm 0,00

É ainda de salientar, que seria bastante interessante formular a bebida de 2% PSL na forma de pastilhas. Contudo, esta formulação obrigaria a uma maior pesquisa de ingredientes, pois para além dos ingredientes efervescentes e do IPS teriam de se adicionar aromas em pó e substitutos para a frutose e xarope de sacarose que conferissem doçura à bebida terminada. Os açúcares e álcoois de açúcares (sacarose, dextrose, frutose, xilitol, sorbitol) têm de ser utilizados em grandes quantidades para produzir bebidas aceitáveis para os consumidores, pelo que é comum o recurso a edulcorantes como a sacarina, acessulfamo – K, aspartâmo, sucralose e stevia para formular produtos de dimensões mais pequenas, uma vez que as quantidades necessárias destes adoçantes para formular uma bebida terminada aceitável para o consumidor são menores.



Figura 6.24 – Aspecto das bebidas obtidas por dissolução de proteína (A), da formulação do suplemento E₂ (B), da formulação do suplemento G₂ (C) e da formulação do suplemento E₃ (D) na bebida 2% PSL.

4. Análise sensorial

As tabelas com os resultados das várias análises sensoriais executadas ao longo deste trabalho de desenvolvimento encontram-se em anexo (ANEXO III).

4.1. Formulação – base

A análise sensorial da formulação-base com os vários isolados (IPS1; IPS2; IPS3; IPS4 e IPS5) é submetida a prova por parte do painel de provadores de afinação, de modo a proceder à escolha do melhor IPS. Foram ainda tiradas fotografias de modo a documentar o aspecto visual das formulações-base (5% de proteína), após a pasteurização (Figura 6.25).

Na tabela 9.1 estão apresentados os resultados da análise sensorial às formulações-base. A única formulação considerada satisfatória é a IPS1, além disso a formulação-base com este isolado foi a que apresentou menores valores de turvação. Assim, utilizou-se o IPS1 na formulação das bebidas enriquecidas com PSL's.



Figura 6.25 – Formulações – base com os vários isolados de proteína de soro com uma concentração de 5% PSL.

A – Água; B – IPS1; C – IPS2; D – IPS3; E – IPS4; F – IPS5.

4.2. Formulações com 2% proteínas de soro de leite

A formulação A₁, A₂, B₁ e C₁, foram analisadas em termos de características sensoriais pelos provadores de afinação. Os resultados encontram-se enunciados nas tabelas 9.2., 9.3., 9.4. e 9.5.

De acordo com Bansema e Stobbe (2004) que desenvolveram uma bebida com sabor a laranja enriquecida com β - glucanas (0,5%) e IPS (0,0%, 0,5%, 1,0%, ou 1,5%) à escala piloto, o IPS tem efeitos significativos sobre a turvação, acidez, intensidade do sabor de laranja, intensidade do sabor a soro de leite e viscosidade. Os provadores neste estudo não detectaram diferenças entre as formulações com diferentes concentrações de IPS. Os atributos negativos detectados neste estudo são esperados nas formulações efectuadas no decorrer do processo de desenvolvimento (Bansema e Stobbe, 2004).

A formulação A₁ apesar de ter sido considerada satisfatória pelo painel de provadores de afinação em todos os aromas experimentados, foi considerada mais satisfatória no aroma de tangerina, Laranja, Limão - aroma modulador₁, Ananás – coco e Limão (aroma alternativo), por ordem decrescente. Além disso, foi detectada uma falta de acidez nas formulações, que se traduz em menos sabor cítrico e também falta de aroma ao respectivo fruto e a presença de um aroma lácteo. Em conclusão desta 1ª prova, o aroma limão (alternativo) foi abandonado, diminuiu-se ao pH (de modo a aumentar a acidez) e aumentou – se a quantidade de aroma utilizada, a excepção do coco, na formulação seguinte (A₂). A quantidade de aroma de coco não foi aumentada porque apenas foi detectada uma falta de aroma de ananás na bebida formulada com o aroma ananás – coco.

A adstringência das PSL's é um dos principais factores que compromete o sucesso das bebidas ácidas enriquecidas com PSL. Este atributo das PSL em pH baixo tem sido bastante investigado devido ao crescente valor das PSL como ingredientes em bebidas funcionais. Contudo estes estudos têm incidido mais sobre os mecanismos que provocam a adstringência. Até há pouco tempo, apenas Sano *et al.* (2005) tinham investigado o efeito da concentração das PSL sobre a adstringência. Este estudo mostrou que um aumento de 0,0 - 0,5 % (m/v) PSL coincidia com um aumento da adstringência. Contudo este intervalo de concentração é bastante limitado. Segundo o Regulamento (CE) n.º 1924/2006 uma bebida só é considerada uma “fonte de proteína” quando pelo menos 10% do valor energético da bebida é fornecido por proteína, sendo considerada uma bebida com “alto teor de proteína”, quando 20% do valor energético da bebida é fornecido por proteína. Além disso, os efeitos funcionais das PSL só são verificados a partir de quantidades iguais ou superiores a 2% PSL (m/v). Recentemente, Kelly e outros (2010) mostraram que a adstringência das bebidas de PSL aumenta com o aumento das concentrações de proteína de 0,25 - 4% (m/m) e mantém-se sem alterações de 4 - 13% (m/m). As evidências destes estudos demonstram que a adstringência possivelmente será denotada nas formulações com 2% PSL (Sano *et al.*, 2005; Kelly *et al.*, 2010).

Com o objectivo de mascarar a adstringência na bebida com aroma de limão, foi ainda experimentado um outro aroma modulador (aroma modulador₂), que foi também aplicado aos restantes aromas cítricos (laranja e tangerina), de modo a disfarçar os possíveis aromas indesejados característicos do IPS.

A análise sensorial à formulação A₂ pelo painel de afinação revelou que todos os aromas foram considerados satisfatórios à excepção do Limão-aroma modulador₁. Além disso, as formulações de laranja e tangerina com o aroma modulador₂ apesar de satisfatórias apresentaram menores classificações que os aromas laranja e tangerina isolados, pelo que as formulações nestes aromas com o aroma modulador₂ foram abandonadas. Nas formulações de laranja e tangerina com o aroma modulador₂ foi detectado um aroma/sabor a baunilha que atribuía características estranhas à bebida. Quanto ao aroma de limão das três formulações (limão, limão aroma modulador₁, limão aroma modulador₂), a melhor avaliação foi para o limão aroma modulador₂, pelo que foi este o aroma de limão seleccionado. O aroma limão aroma modulador₂ apresentou menor adstringência que as restantes formulações de limão. O aroma a ananás-coco foi considerado satisfatório, apesar de possuir um excesso de aroma de coco que lhe confere uma certa amargura.

A análise às formulações B₁ e C₁ pelo painel de afinação foram consideradas quase todas não suficientemente satisfatórias, à excepção do aroma de limão, laranja e ananás-coco para a formulação B₁. Mas mesmo assim as classificações destas foram inferiores às das formulações A₂ nos mesmos aromas, pelo que estas formulações tal como as restantes não suficientemente satisfatórias foram abandonadas. No caso da formulação B₁ (fonte de açúcar é o concentrado de frutas), as características negativas mais apontadas são a cor e a falta de doçura. Já no caso da formulação C₁ [a fonte de açúcar é outro glicido (2,5%) e sacarose (3,5%)] é a falta de doçura e um corpo da bebida mais aguado, sendo também detectada mais frequentemente a adstringência que nas formulações A₂ e B₁.

A formulação A₂ foi entretanto submetida à análise sensorial pelo painel de provadores oficial nos aromas de limão-aroma modulador₂, laranja, tangerina e ananás-coco. E segundo esta análise, apenas o aroma de limão-aroma modulador₂ foi considerado não suficientemente satisfatório (Tabela 9.6). O comentário mais comum foi a falta de aroma à respectiva fruta. No caso do aroma ananás-coco apenas se sentiu a falta ao aroma de ananás, já que o aroma a coco foi considerado excessivo. A adstringência foi detectada no aroma de laranja e limão-aroma modulador₂ por apenas um dos provadores. O aroma de tangerina foi considerado mais turvo que os restantes, o que comprometeu a sua avaliação geral (-0,4). O aroma de laranja e ananás-coco obtiveram a mesma avaliação geral (-0,2).

De modo a melhorar a formulação A₂, efectuou-se uma nova formulação (A₃) aumentando-se a quantidade de aroma empregue, à excepção do aroma de coco e o aroma modulador₂. Como o aroma de laranja foi considerado estranho, apesar de a bebida com aroma a laranja ser apontada como a formulação com melhor aroma, procedeu-se a uma quarta formulação (A₄) para apenas o aroma de laranja. Nesta formulação reduziu-se a quantidade de aroma de laranja empregue.

Nesta última prova, as formulações consideradas satisfatórias foram A₂ de aroma de laranja (-0,8), a A₂ de aroma de ananás-coco (-0,2) e a A₃ de ananás-coco (-0,4) (Tabela 9.7). As formulações com o aroma de limão-aroma modulador₂ foram todas consideradas insatisfatórias sendo que a doçura excessiva, a falta de acidez e o aroma oxidado foram as características negativas mais apontadas. Nas formulações com aroma de laranja, os provadores detectaram a salinidade da bebida. Além disso, acharam a bebida desequilibrada, e as formulações de laranja consideradas "Não suficientemente

satisfatórias” e “Não satisfatórias” foram apontadas como sendo excessivamente doces. As formulações A₃ e A₄ efectuadas com o aroma de tangerina foram consideradas não satisfatórias, sendo apontadas como bebidas desequilibradas e relativamente doces. As bebidas formuladas com os aromas de ananás e coco foram consideradas ambas “satisfatórias” pelo painel de provadores oficial. Contudo, os provadores acharam estas bebidas doces e com sabor amargo residual possivelmente conferido pelo aroma de coco. Uma possível solução para este amargor poderá ser uma redução muito pequena do aroma de coco.

As formulações A₃ e A₄ nos vários aromas foram consideradas possuir cor alterada à excepção das bebidas formuladas com o aroma de ananás–coco. Os provadores não associaram a cor da bebida ao aroma desta, o que poderá ter comprometido a avaliação das bebidas formuladas com os aromas de limão, laranja e tangerina. Mas relacionaram a cor amarela clara conferida pelas PSL ao aroma de ananás–coco, o que pode explicar, em parte, a maior aceitabilidade das bebidas com este aroma.

A doçura excessiva foi um dos atributos negativos apontado a todas as formulações. Uma das soluções seria reduzir o teor de açúcares da bebida, contudo esta redução comprometeria o efeito funcional da bebida desportiva, uma vez que pelo menos 75% da energia deve ser fornecida a partir de glícidos metabolizáveis de elevado índice glicémico (sacarose, frutose, glucose, etc.). A solução que se poderia adoptar seria utilizar uma mistura de três açúcares, em vez de utilizar só frutose e xarope de sacarose, sem alterar a concentração total de açúcares de 6% (m/v). O terceiro açúcar que se propõe utilizar é a maltodextrina. As maltodextrinas são produzidas por hidrólise do amido e apresentam um elevado conteúdo em electrólitos e praticamente nenhuma doçura.

A adição das maltodextrinas levaria a um possível aumento da osmolalidade (possuem baixo PM) e com a redução da doçura, provavelmente a adstringência seria mais notada. Assim, esta alteração teria de ser efectuada com bastante sensatez, realizando-se várias formulações com diferentes quantidades de maltodextrina.

A adstringência, ao contrário do esperado, foi pouco percebida pelos provadores. Esta situação ter-se-á devido ao carácter doce da bebida. E mesmo a acidez e o sabor à papelão característico das PSL não foram identificados durante as análises sensoriais. Talvez, a concentração de 2% PSL (m/v) não seja suficientemente grande para que estes aromas se sobreponham aos aromas adicionados à bebida.

4.3. Formulações com 5% proteínas de soro de leite

As formulações com 5% PSL (A₁⁺; A₃⁺, B₃⁺ e C₃⁺) foram apenas analisadas sensorialmente pelo painel de provadores de afinação. Os resultados das análises encontram – se enunciados nas tabelas 9.8, 9.9, 9.10 e 9.11.

A formulação A⁺₁ (Tabela 9.8) nos vários aromas foi considerada adstringente e apenas os aromas de limão – aroma modulador₂ e o aroma de tangerina foram considerados “satisfatórias”. Estas bebidas apresentaram muito mais cor que as formulações com 2% PSL.

A formulação A⁺₃ (Tabela 9.9) foi considerada “não suficientemente satisfatória” pelo painel de provadores de afinação. As principais características negativas apontadas foram a adstringência e a cor amarela pronunciada. Assim, como o aroma lácteo que foi detectado nas formulações com aroma de limão – aroma modulador₂ e laranja.

Na tentativa de disfarçar a acidez com a doçura, recorreu – se à aplicação de edulcorantes como a sucralose e o acessulfamo K nas formulações B⁺₃ e C⁺₃ (Tabelas 9.10 e 9.11), respectivamente. As amostras foram todas consideradas “não satisfatórias” devido ao excesso de doçura. E apesar de se pensar que a doçura poderia disfarçar a adstringência da bebida, esta foi notada pelos provadores de afinação nas duas formulações e nos diferentes aromas utilizados. Nenhuma das formulações com 5% PSL foi levada à prova pelo painel de provadores oficial, uma vez que não se conseguiu desenvolver uma formulação em que a adstringência não fosse tão pronunciada.

Segundo Kelly *et al.* (2010), o máximo de adstringência é atingido em bebidas com 4% PSL (p/V), portanto a adstringência nas bebidas com 5% PSL (p/V) encontra – se no seu limiar de percepção máximo (Kelly *et al.*, 2010).

Vários factores parecem influenciar a adstringência sendo consistentemente relatados na literatura. As variáveis predominantes indicadas pela revisão bibliográfica de Beecher (2006) incluem:

- pH;
- viscosidade;
- grau de polimerização.

Beecher (2006) testou algumas destas variáveis, sugerindo que as interações electrostáticas são responsáveis pela adstringência percebida nas bebidas ácidas fortificadas com PSL e que as interações entre as PSL e as PS na cavidade oral podem ser afectadas por mudanças na viscosidade, o suficiente para reduzir significativamente a percepção da adstringência. Este fenómeno poder – se -ia dever ao efeito de restaurar a lubrificação da cavidade oral, ou retardar a agregação entre as PSL e as PS devido a mudanças na taxa de difusão. Beecher (2006) propôs ainda que as mudanças no pH também poderão ter um efeito sobre a adstringência devido a mudanças na carga e a interações electrostáticas entre as PSL e as PS (Beecher, 2006).

Contudo, após o estudo verificou–se que as mudanças de viscosidade não são uma opção viável para reduzir a adstringência de bebidas fortificadas com PSL a um nível aceitável. As PS e as PSL agregam e precipitam em diferentes graus, quando combinadas, e o grau de agregação e precipitação está correlacionado com a adstringência. Por outro lado, a adstringência diminui à medida que o pH é reduzido, devido à diminuição na carga de atracção entre as PSL e as PS. Segundo Beecher (2006) verificou – se uma diminuição gradual da adstringência entre pH 3,4 e 2,6, que se pode explicar pelo facto das proteínas em valores de pH bem acima dos pontos isoeléctricos (pI), serem altamente

negativas, e menos propensas a se agregarem, ocorrendo o mesmo para valores de pH abaixo do pI (Beecher, 2006).

Na faixa de pH das bebidas ácidas fortificadas com PSL (~ pH 2 - 3,5), no entanto, a atracção electrostática entre as PSL e abaixo do pI das PS é variável e depende da diferença de carga entre as proteínas. Uma vez que as PSL estão carregadas positivamente a estes valores de pH baixos, um aumento na repulsão leva a um aumento das cargas positivas sobre as PS à medida que o pH é reduzido de 3,4 - 2,6, resultando em uma diminuição na percepção de adstringência, como foi observado por Beecher (2006) (Beecher, 2006).

A utilização da estratégia de diminuir o pH para diminuir a percepção da adstringência é limitada, uma vez que uma diminuição de pH também significa um aumento da acidez. Segundo Beecher (2006) verifica – se o aumento da acidez com a diminuição do pH e conseqüentemente uma ligeira diminuição da doçura das bebidas é observada entre pH 3,0 e 2,6. Assim, a diminuição do pH deve ser feita com cuidado de modo a não comprometer as restantes propriedades sensoriais da bebida.

Ainda segundo Beecher (2006), controlar a carga das PSL's através de modificação com um açúcar redutor, como a ribose, ou alterar o ambiente iónico pode ajudar a reduzir tanto a acidez como a adstringência nas bebidas ácidas fortificadas com PSL (Beecher, 2006).

4.4. Ensaio de estabilidade

As amostras submetidas ao ensaio de estabilidade foram sujeitas a análise sensorial pelo painel de provadores oficial, de modo a avaliar as mudanças que ocorrem nas propriedades organolépticas a diferentes temperaturas de armazenamento e durante um período máximo de armazenamento de 4 semanas. A avaliação sensorial das amostras do ensaio de estabilidade, encontram – se dividida em 3 tabelas, em que cada uma representa uma determinada temperatura (Anexo II - Tabela 9.12, Tabela 9.13 e Tabela 9.14).

As amostras de produto fresco e as amostras que estiveram a 27°C durante 1 semana, 2 semanas, 3 semanas e 4 semanas foram consideradas “satisfatórias”. Todavia, os provadores perceberam a adstringência conferida pelas PSL em algumas dessas amostras.

À temperatura de 37°C, as amostras foram consideradas “não suficientemente satisfatórias”, à excepção da amostra de 4 semanas foi classificada como “não satisfatória”. A oxidação, a cor, a falta de aroma e mau sabor foram as principais características apontadas para estas amostras.

As amostras submetidas à temperatura de 47°C foram consideradas “não satisfatórias”, à excepção da amostra da 1ª semana que foi avaliada como “não suficientemente satisfatória”. A oxidação, a cor, a falta de aroma e mau sabor foram as principais características apontadas para estas

amostras. O aroma/sabor à soro de leite foi detectado nas amostras da 3ª e 4ª semana. Assim, à medida que a temperatura de armazenamento e o tempo de armazenamento aumenta, averigua-se classificações cada vez mais negativas.

Ao contrário das análises físico-químicas, em que os parâmetros como o Brix, pH e acidez titulável não variaram muito com a temperatura e com o tempo de armazenamento, mantendo-se dentro dos intervalos de tolerância respectivos, as análises sensoriais apresentaram resultados bastante distintos dos produtos frescos.

Os maus sabores característicos das PSL, identificados em vários estudos tornaram-se mais evidentes à medida que o tempo de armazenamento e a temperatura de armazenamento aumentou. Além disso, verificou-se um aumento da cor dos produtos (Figura 6.26) bastante evidente nas últimas semanas de armazenamento à temperatura de 47°C. A alteração da cor da bebida, em princípio, deveu-se às reacções de caramelização dos açúcares e às reacções de oxidação que ocorrem às temperaturas de 37 e 47°C, e como resultado presencia-se uma cor mais acastanhada.

Este ensaio de estabilidade permitiu ilustrar as alterações que ocorrem nas propriedades organolépticas e sensoriais das bebidas quando estas são sujeitas a temperaturas indevidas de armazenamento. Salientando-se que apesar das bebidas poderem estar com as suas características físico-químicas praticamente inalteradas, as suas propriedades sensoriais poderão já não ser aceitáveis.

De acordo com um método desenvolvido pela Unicer para estimar o prazo de validade dos seus produtos através da análise sensorial das amostras às temperaturas e tempos de armazenamento já referidos, a bebida de 2% PSL no aroma de limão terá um prazo de validade máximo de 9 meses.

É de salientar, que o enchimento não foi efectuado em condições assépticas, nem se recorreu ao uso de azoto para preencher o headspace, pelo que ocorreu a incorporação de oxigénio que possivelmente aumentou a ocorrência das reacções de oxidação, diminuindo o tempo-de-prateleira da bebida.

Algumas das medidas que poderiam ser tomadas para aumentar a estabilidade da bebida poderia ser a utilização do antioxidante ácido ascórbico.

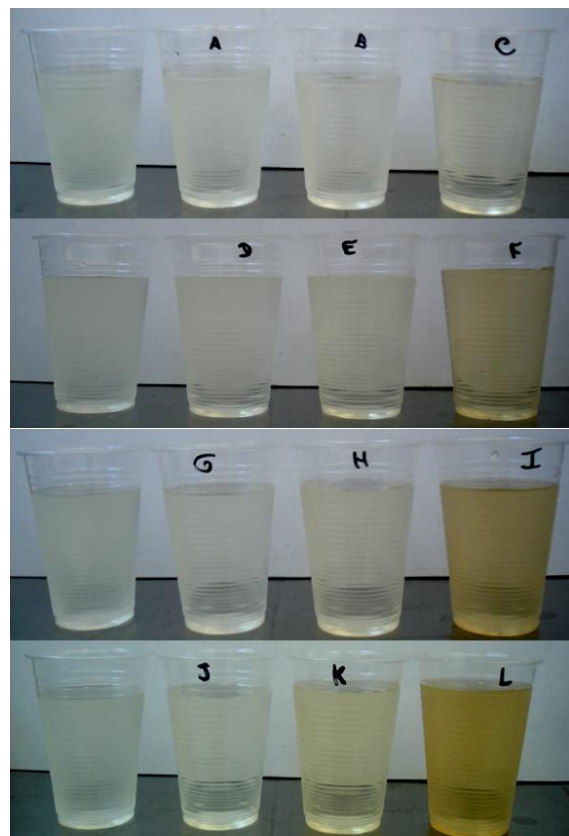


Figura 6.26 – Aspecto das amostras sujeitas ao ensaio de estabilidade. O primeiro copo de cada série corresponde a produto fresco. A série A, B e C corresponde a 1ª semana de armazenamento nas temperaturas de 27°C, 37°C e 47°C, respectivamente. A série seguinte corresponde à 2ª semana de armazenamento e assim

VII. Conclusão

A indústria de refrigerantes tem passado por várias mudanças. Actualmente, o consumidor procura funcionalidade nos refrigerantes. De acordo com as tendências emergentes do mercado de bebidas não-alcoólicas, a bebida ideal é um refrigerante funcional que combina benefícios para o consumidor em termos de saúde e/ou se adapte ao estilo de vida do consumidor sendo ao mesmo tempo sensorialmente apetecível. Assim é importante garantir que a funcionalidade não comprometa as características organolépticas da bebida. Outro factor a ter em conta, é a autenticidade. O consumidor começa a abandonar as formulações de aspecto artificial em detrimento das bebidas mais naturais. O aspecto mais artificial é associado pelo consumidor a bebidas menos saudáveis.

As bebidas desportivas são um segmento de mercado das bebidas funcionais, que começa a ter crescimento em alguns mercados. As preocupações com a saúde e a maior prática de exercício físico têm levado a que ocorra uma transferência deste tipo de bebidas dos atletas para o consumidor comum.

As tendências no segmento de bebidas desportivas são numerosas, mas uma que se tem salientado é a *nutrient timing* e a segmentação para o público feminino e crianças. As PSL's são uma ótima resposta a esta tendência. A ingestão de PSL's, dado serem proteínas de elevada qualidade, tem sido associada a benefícios como redução da lesão muscular, atenuação da diminuição da força, e recuperação reforçada após exercícios de resistência.

As bebidas desportivas estão a tornar-se cada vez mais funcionais e como a maior parte das bebidas desportivas não contêm proteína, o desenvolvimento de uma bebida desportiva enriquecida com PSL será uma ótima ideia. Além disso, em Portugal, o mercado de bebidas é um segmento pouco explorado e a presença de bebidas com proteínas é praticamente nula.

A bebida desenvolvida (com 2% PSL) fornece uma dose de 10 g PSL por dose (500 mL). Esta bebida foi formulada com dois tipos de açúcares de modo a promover uma maior absorção dos açúcares e contém 0,12% cloreto de sódio para reposição dos níveis de electrólitos. A dose de 10 g de PSL numa bebida que combina glícidos e proteínas poderá ser suficiente para estimular a síntese proteica e combater a degradação de proteínas musculares. Os AACR são os principais constituintes das PSL com acção benéfica no metabolismo energético e que são responsáveis pelos benefícios referidos. O AACR leucina é de particular interesse, dado ter um papel-chave na via de iniciação da tradução de síntese de proteína muscular. Uma oferta abundante de leucina no músculo após o exercício, pode promover uma recuperação mais eficiente a nível molecular, acelerando o processo de adaptação ao treino físico.

A formulação de uma bebida com PSL apresenta alguns desafios como a maior formação de turvação e a elevada adstringência nas bebidas com pH ácido. Contudo, a turvação não foi considerada um grande problema durante o desenvolvimento desta bebida, dado o pH ácido da bebida reduzir a

formação dos agregados de proteína (pH abaixo do pI das PSL). Além disso optou-se, dentro dos vários isolados disponíveis pelo IPS em que se verificou menor turvação.

A adstringência, por sua vez, aumenta à medida que a concentração de proteínas aumenta de 0,25-4% (m/m) e mantém-se sem alterações de 4-13% (m/m). Na formulação de 2% PSL (m/v) a adstringência praticamente não foi notada pelos provadores do painel oficial. Uma justificação para esta evidência é que a doçura excessiva apontada para as várias formulações de 2% PSL, poderá ter mascarado a adstringência prevista para estas formulações. Já as formulações com 5% PSL (m/v) foram consideradas bastante mais adstringentes pelo painel de provadores de afinação, devido à maior concentração de proteínas. Ainda é necessário efectuar bastante trabalho relativamente à formulação com 5% PSL (m/v), para que esta seja considerada aceitável para o consumidor.

Um outro projecto interessante seria desenvolver uma bebida que se destinasse especialmente a aumentar a saciedade e a reduzir o peso corporal. Todavia esta bebida sairia do âmbito das bebidas desportivas mais tradicionais, contendo cerca de 10% de proteína por 500 mL de bebida, sendo de esperar uma maior turvação e viscosidade, mas não maior adstringência em relação à bebida de 5% PSL (m/v). Resolvendo – se o problema da adstringência da fórmula com 5% PSL (m/v), na fórmula com 10% PSL, apenas se teria a preocupação com a turvação aumentada, que poderia ser reduzida recorrendo às numerosas estratégias referidas na discussão deste trabalho. Uma possível solução para reduzir a adstringência seria a utilização de um açúcar redutor, como a ribose.

A doçura da formulação com 2% PSL pode ser reduzida não pela simples redução do teor de açúcares da bebida, mas pela utilização de uma mistura de 3 açúcares. Os açúcares a utilizar são a sacarose e a frutose (ambos já utilizados na formulação actual), e a maltodextrina. A maltodextrina é menos doce, podendo-se assim reduzir a doçura da bebida sem comprometer a quantidade de açúcares a utilizar. Contudo, a utilização da maltodextrina levará possivelmente, a um aumento da osmolalidade, devido ao seu baixo peso molecular, comprometendo a isotonicidade da bebida. Além disso, a redução da doçura da bebida poderá acentuar a adstringência conferida pelas PSL's.

Uma das limitações deste trabalho é não se poder afirmar que a bebida formulada com 2% PSL é isosmótica/ isotónica. Para tal, será necessário que se realizem análises para determinar a osmolalidade da solução. Um dos métodos mais utilizados é a osmometria através da medida do abaixamento crioscópico. Caso a solução não seja isosmótica existem numerosas medidas que podem ser tomadas para aumentar e diminuir a osmolalidade, como aumentar ou diminuir o teor de maltodextrinas ou acrescentar sais minerais como cálcio, magnésio ou potássio.

A inexistência de uma bebida de referência dificulta bastante o processo de desenvolvimento e o sucesso da análise sensorial. Uma bebida modelo com PSL's facilitaria aos provadores, a percepção do tipo de características sensoriais importantes para este tipo de produto. Além disso, facilitaria o processo de desenvolvimento, funcionando como guia para a formulação da nova bebida.

A análise sensorial também devia ter sido realizada em triplicata como as análises físico – químicas, de modo a obter resultados mais válidos. As provas sensoriais são um método de análise bastante relativo, que podem ser influenciados por diversos factores externos. Nomeadamente neste projecto, a formulação A₂, nos vários aromas, obteve resultados distintos nas duas provas a que foi sujeita.

As bebidas funcionais com 2% PSL (m/v) produzidas consideradas aceitáveis foram a formulação A₂ no aroma de laranja e as formulações A₂ e A₃ no aroma de ananás-coco. Estas bebidas têm as potenciais propriedades benéficas em termos de saúde oferecidas pelas PSL e podem servir como a próxima geração de bebidas desportivas, uma vez que melhoram o desempenho atlético e ajudam no controlo do peso saudável.

A maior aceitabilidade do aroma ananás-coco e laranja poderá dever-se ao carácter mais doce destes aromas, que disfarçará possivelmente melhor a adstringência e os sabores indesejados característicos das PSL.

O suplemento efervescente desenvolvido apresenta numerosas deficiências, sendo necessário pensar-se num possível desenvolvimento na forma granular ou na forma de “mini – pastilhas”, de modo a diminuir o fenómeno da bebida verter para fora da garrafa. Além de que, a quantidade de bicarbonato de sódio tem de ser ajustada de modo a diminuir a salinidade da bebida.

A opção de desenvolver uma bebida desportiva enriquecida com PSL's é apenas um dos exemplos das bebidas funcionais que poderão ser uma tendência no mercado de refrigerantes. Outras bebidas poderiam ter sido desenvolvidas no âmbito deste projecto de desenvolvimento. Nomeadamente, uma bebida Iced Tea carbonatada ou uma Bebida Iced Tea com determinadas propriedades funcionais seriam outras opções, assim como um bebida energética mais direccionada para a população idosa ou para a comunidade estudantil. A sugestão de desenvolvimento de uma bebida Iced Tea deve-se ao facto deste tipo de produtos ter um crescimento bastante pronunciado nos últimos anos em Portugal.

Relativamente ao trabalho realizado na Unicer, este possibilitou-me ter contacto com a realidade profissional e com uma das maiores indústrias agro-alimentares. Permitiu-me adquirir a percepção das dificuldades inerentes a uma fase de desenvolvimento de um produto e do imenso trabalho de pesquisa e formulação necessário até que o produto seja lançado para o mercado.

Além do trabalho de pesquisa das principais tendências do mercado de refrigerantes e do desenvolvimento da bebida desportiva enriquecida com PSL's, tive oportunidade de participar no desenvolvimento de numerosas formulações de outros produtos efectuadas para testar uma nova matéria-prima e/ou reduzir a quantidade de um determinado ingrediente. Contactando com a realidade de que o trabalho de desenvolvimento é diário e constante, e que é possível trabalhar-se num vasta gama de produtos. Tendo eu participado na elaboração de novas formulações tanto de cerveja como de refrigerantes, e também de águas aromatizadas. Este estágio curricular permitiu – me ainda perceber que para além do lançamento de novos produtos, o desenvolvimento é importante para otimizar

produtos já disponíveis no mercado, quer por melhoramento das fórmulas, quer para melhor rentabilizar os gastos financeiros inerentes à produção, ou mesmo por imperativos de mercado, como sejam a redução de corantes e mesmo conservantes.

Tive ainda a oportunidade de trabalhar directamente no controlo de qualidade efectuado no Laboratório do Departamento de Qualidade, efectuando análises – físico químicas e participando em análises sensoriais.

Auxiliei ainda num projecto na área das cervejas, em que acompanhei o processo fermentativo de cervejas, recolhendo amostras e controlando e registando parâmetros como o extracto, pH e temperatura, entre outros. Através deste projecto tive a oportunidade de contactar com o processo de produção da cerveja, compreendendo os numerosos factores envolvidos na produção de uma cerveja. Tive ainda oportunidade de contactar em termos físicos com a área de produção e enchimento da produção de cerveja.

Neste estágio curricular tive assim oportunidade de contactar com duas áreas distintas, por um lado com a produção e inovação no segmento das cervejas, por outro com a inovação e desenvolvimento de novos produtos no sector de sumos e refrigerantes.

VIII. Bibliografia

- Aldricha, N. D., Reicksa, M. M., Sibleyb, S. D., Redmonb, J. B., Thomas, W., Raatza, S. K., 2011. Varying protein source and quantity do not significantly improve weight loss, fat loss, or satiety in reduced energy diets among midlife adults. *Nutrition Research* 31, 104–112
- Amendola, C., Iannilli, I., Restuccia, D., Santini, I., Vinci, G., 2004. Multivariate statistical analysis comparing sport and energy drinks. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 5, 263–267
- Andrewes, P., Kelly, M., Vardhanabhuti, B., Foegeding, E. A., 2011. Dynamic modelling of whey proteinesaliva interactions in the mouth and relation to astringency in acidic beverages. *International Dairy Journal* 30, 1 – 8
- Ashurst, P. R., "Introduction", *Chemistry and Technology of Soft drinks and Fruit juices problems solved*, P. R. Ashurst (ed.). Blackwell Publishing Ltd, 2005
- Ashurst, P. R., Hargitt, R., "Product development of new soft drinks and fruit juices", *Soft drink and fruit juice problems solved*. Woodhead Publishing Limited, 2009
- ASNIRSF, 2010. INFORMAR "ÁGUAS, REFRIGERANTES E SUMOS" Nº 28 - JANEIRO 2010 (http://extranet.anirsf.pt/upload/documentos/3668_informar%2028.pdf)
- ASNIRSF, 2004. Guia para a Rotulagem de Bebidas Refrigerante, Sumos de Frutos e Néctares (http://extranet.anirsf.pt/upload/documentos/196_GUIA%20ROTULAGEM%20REF.pdf)
- Bansemá, F. T. C., Stobbe, K., 2004. Development of an Orange - flavored Barley β -Glucan Beverage with Added Whey Protein Isolate. *Journal of Food Science* 69 (7), S237 – S242
- Bech-Larsen, T., Scholderer, J., 2007. Functional foods in Europe: consumer research, market experiences and regulatory aspects. *Trends in Food Science & Technology* 18, 231 – 234
- Beecher, J. W. Factors Regulating Astringency of Whey Protein-Fortified Beverages. Thesis submitted to the Graduate Faculty of North Carolina State University in partial fulfillment of the requirements for the degree of Mater of Food Science, 2006
- Beecher, J. W., Drake, M. A., Luck, P. J., Foegeding, E. A., 2008. Factors Regulating Astringency of Whey Protein Beverages. *Journal of Dairy Science* 91 (7), 2553–2560
- Begum, G., Cunliffe, A., Leveritt, M., 2005. Physiological Role of Carnosine in Contracting Muscle. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, 15, 493-514

- Betts, J. A., Toone, R. J., Stokes, K. A., Thompson, D., 2009. Systemic indices of skeletal muscle damage and recovery of muscle function after exercise: effect of combined carbohydrate–protein ingestion. *Appl. Physiol. Nutr. Metab.* 34, 773–784
- Bertenshaw, E. J., Lluch, A., Yeomans, M. R., 2009. Dose-dependent effects of beverage protein content upon short-term intake. *Appetite* 52, 580–587
- Brief, A. A., Maurer, S. G., Di Cesare, P. E., 2001. Use of Glucosamine and Chondroitin Sulfate in the Management of Osteoarthritis. *Journal of the American Academy of Orthopaedic Surgeons* 9 (2), 71 - 78
- Brouns, F., Kovacs, E., 1997. Functional Drinks for athletes. *Trends in Food Science & Technology* 8, 414 – 421
- Brudnak M. A., 2004. Creatine: are the benefits worth the risk? *Toxicology Letters* 150, 123-130
- Burrington, K. J., 2009. “The Changing Nature of Sports Drinks”, Prepared Food (<http://www.preparedfoods.com/articles/article-the-changing-nature-of-sports-drinks-january-2009>)
- Cepero, M., Padial, R., Rojas, F. J., Geerlings, A., De la Cruz, J. C., Boza, J. J., 2010. Influence of ingesting casein protein and whey protein carbohydrate beverages on recovery and performance of an endurance cycling test. *Journal of Human Sport & Exercise*, 5(2), 158-175
- Chatsudthipong, V., Muanprasat, C., 2009. Stevioside and related compounds: Therapeutic benefits beyond sweetness. *Pharmacology & Therapeutics* 121, 41–54
- Childs, J. L., Drake, M. A., 2010. Consumer Perception of Astringency in Clear Acidic Whey Protein Beverages. *Journal of Food Science* 75 (9), S513 – S521
- Chung Chun Lam, S. M.S., Moughan, P. J., Awati, A., Morton, H. R., 2009. The influence of whey protein and glycomacropeptide on satiety in adult humans. *Physiology & Behavior* 96, 162–168
- Cribb, P. J., Bienvenue, A., da Camara, A., U.S. Whey Proteins in Sports Nutrition. USDEC, 2005 (http://www.usdec.org/files/PDFs/2008Monographs/WheySportsNutrition_English.pdf)
- Daniells, S., 2010 a. “The science of sports ingredients”, Nutraingredients (<http://www.nutraingredients.com/Research/The-science-of-sports-ingredients>)
- Daniells, S., 2010 b. “The science of sports ingredients”, Nutraingredients (<http://www.nutraingredients.com/Industry/Drinks-innovation-boosting-sport-nutrition>)
- Decreto-lei n.º 193/2000, de 18 de Agosto (http://www.spcna.pt/download.php?path=pdfs&filename=SP_CNA_20081212113246_Dec-Lei_n__193_2000_de_18_08.pdf)
- Decreto-Lei n.º 225/2003, de 24 de Setembro (<http://dre.pt/pdf1sdip/2003/09/221A00/62096214.pdf>)

Decreto-lei n.º 394/98, de 10 de Dezembro (<http://dre.pt/pdf1sdip/1998/12/284A00/67316739.pdf>)

Decreto-lei n.º 121/98, de 8 Maio (<http://dre.pt/pdf1sdip/1998/05/106A00/21422153.pdf>)

Dieroff, C., 2011. “Consumers Want it All”, Prepared Food (<http://www.preparedfoods.com/articles/109454-consumers-want-it-all>)

EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA), 2010. Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to whey protein and increase in satiety leading to a reduction in energy intake (ID 425), contribution to the maintenance or achievement of a normal body weight (ID 1683), growth or maintenance of muscle mass (ID 418, 419, 423, 426, 427, 429, 4307), increase in lean body mass during energy restriction and resistance training (ID 421), reduction of body fat mass during energy restriction and resistance training (ID 420, 421), increase in muscle strength (ID 422, 429), increase in endurance capacity during the subsequent exercise bout after strenuous exercise (ID exercise (ID 423, 428, 431), pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006(1428), skeletal muscle tissue repair (ID 428) and faster recovery from muscle fatigue after. EFSA Journal 8 (10):1818, 1 - 28

European Commission, 2011. Report of the Scientific Committee on Food on composition and specification of food intended to meet the expenditure of intense muscular effort, especially for sportmen - Scientific Committee on food

Fallourd, M. J., Viscione, L., “Ingredient selection for stabilisation and texture optimisation of functional beverages and the inclusion of dietary fibre”, Functional and speciality beverage technology, P. Paquin (ed.). Woodhead Publishing Limited e CRC Press LLC, 2009

Ferreira, C. L., Santos, J. A., Amaral, T. F., 2010. Contribuição da composição nutricional e energética das bebidas para a hidratação na actividade física. Revista Gymnasium, 12 (3)

Fluegel, S. M., Shultz, T. D., Powers, J. R., Clark, S., Barbosa-Leiker, C., Wright, B. R., Freson, T. S., Fluegel, H. A., Minch, J. D., Schwarzkopf, L. K., Miller, A. J., Di Filippo, M. M., 2010. Whey beverages decrease blood pressure in prehypertensive and hypertensive young men and women. International Dairy Journal 20, 753 – 760

Frestedt, J. L., Zenk, J. L., Kuskowski, M. A., Ward, L. S., Bastian, E. D., 2008. A whey-protein supplement increases fat loss and spares lean muscle in obese subjects: a randomized human clinical study. Nutrition & Metabolism, 5 (8), 1 – 7

Frid, A.H., Nilsson, M., Holst, J. J., Björck, I. M. E., 2005. Effect of whey on blood glucose and insulin responses to compoportal breakfast and lunch meals in type 2 diabetic subjects. Am J Clin Nutr, 82, 69–75

Katsanos, C. S., Chinkes, D. L., Paddon – Jones, D., Zhang, X., Aarsland, A., Wolfe, R. R., 2008. Whey protein ingestion in elderly persons results in greater muscle protein accrual than ingestion of its constituent essential amino acid content. Nutrition Research 28, 651–658

- Koski, S., 2010. "Protein-based Functional Beverages", Prepared Food (<http://www.preparedfoods.com/articles/108280-proteinbased-functional-beverages>)
- Laclair, C. E., Etzel, M. R., 2009. Turbidity and Protein Aggregation in Whey Protein Beverages. *Journal of Food Science*, 74 (7), C526 – C535
- Gruenwald, J., "Fortification of beverages with products other than vitamins and minerals", Functional and speciality beverage technology, Paul Paquin (ed.). Woodhead Publishing Limited e CRC Press LLC, 2009
- Haa, E., Zemel, M. B., 2003. Functional properties of whey, whey components, and essential amino acids: mechanisms underlying health benefits for active people (Review). *Journal of Nutritional Biochemistry* 14, 251–258
- Haffner, R., 2011. "Innovative Beverages Find Success", Prepared Food (<http://www.preparedfoods.com/articles/innovative-beverages-find-success>)
- Heller, L., 2010. "Sports Nutrition market driven by non – sporty consumers", Nutraingredients (<http://www.nutraingredients.com/Consumer-Trends/Sports-nutrition-market-driven-by-non-sporty-consumers>)
- Hill, R. J., Bluck, L. J. C., Davies, P. S. W., 2008. The hydration ability of three commercially available sports drinks and water. *Journal of Science and Medicine in Sport* 11, 116 – 123
- Hopkins, W. G., Wood, M. R., 2006. The optimum composition for endurance sports drinks. *Sport Science* 10, 59 – 62
- Horman, J., "Syrup preparation and syrup room operations", Carbonated Soft Drinks – Formulation and Manufacture, D. P. Steen e P. R. Ashurst (ed.). Blackwell Publishing Ltd, 2006
- Howarth, K. R., Moreau, N. A., Phillips, S. M., Gibala, M. J., 2009. Coingestion of protein with carbohydrate during recovery from endurance exercise stimulates skeletal muscle protein synthesis in humans. *J Appl Physiol* 106, 1394–1402
- Humphries, G. *Nutraceutical Soft Drinks: Innovation in sports, energy, dairy and functional beverages*. Business Insights Ltd, 2007
- Iacovone, A., Munhoz, M. P., Rizzato, A., 2010. Effervescent powders formulation for beverages and its use. United States Patent Application Publication 2010/0003384 A1
- Karlic, H., Lohninger, A., 2004. Supplementation of L-carnitine in athletes: does it make sense? *Nutrition*, 20, 709 – 715
- Kelly, M., Vardhanabhuti, B., Luck, P., Drake, M. A., Osborne, J., Foegeding, E. A., 2010. Role of protein concentration and protein–saliva interactions in the astringency of whey proteins at low pH. *Journal of Dairy Science* 93 (5), 1900–1909

- Kemp, S. E., "Developments in sweeteners for functional and speciality beverages", Functional and speciality beverage technology, Paul Paquin (ed.). Woodhead Publishing Limited e CRC Press LLC, 2009
- Laclair, C. E., Etzel, M. R., 2009. Turbidity and Protein Aggregation in Whey Protein Beverages. *Journal of Food Science*, 74 (7), C526-C535
- Laclair, C. E., Etzel, M. R., 2010. Ingredients and pH are Key to Clear Beverages that Contain Whey Protein. *Journal of Food Science*, 75 (1), C21 – C27
- Lee, C. A., Vickers, Z. M., 2008. The astringency of whey protein beverages is caused by their acidity. *International Dairy Journal* 18, 1153–1156
- Lidon, F., Silvestre, M. M., "Indústrias Alimentares", *Indústrias Alimentares: Aditivos e Tecnologia*. Escola Editora, 2007
- Marshall, K., 2004. Therapeutic Applications of Whey Protein. *Alternative Medicine Review* 9 (2)
- Martini, S., Potter, R., Walsh, M.K., 2010. Optimizing the use of power ultrasound to decrease turbidity in whey protein suspensions. *Food Research International* 43, 2444–2451
- Mccleave, E. L., Ferguson-Stegall, L., Ding, Z., Doerner III, P. G., Wang, B., Kammer, I.M., Ivy, J. L., 2011. A low carbohydrate–protein supplement improves endurance performance in female athletes. *Journal of strength and conditioning research*, 25(4), 879–888
- Mettler, S.; Rusch, C., Colombani, P. C., 2006. Osmolality and pH of sport and other drinks available in Switzerland. *Sportmedizin und Sporttraumatologie*, 54 (3), 92–95
- Meziane, Z., *Future Innovations in Food and Drinks to 2012: NPD, trend convergence and emerging growth opportunities*. Business Insights Ltd, 2007
- Mizuno, K., Tanaka, M., Nozaki, S., Mizuma, H., Ataka, S., Tahara, T., Sugino, T., Shirai, T., Kajimoto, Y., Kuratsune, H., Kajimoto, O., Watanabe, Y., 2008. Antifatigue effects of coenzyme Q10 during physical fatigue. *Nutrition*, 24, 293 – 299
- Montgomery, J., 2008. Advantages of Effervescence in the Beverage Market. *Natural Products Insider* (http://www.amerilabtech.com/docs/NPIN_amerilab_electronic.pdf)
- Nilsson, M., Holst, J. J., Björck, I. M. E., 2007. Metabolic effects of amino acid mixtures and whey protein in healthy subjects: studies using glucose-equivalent drinks. *Am J Clin Nutr* 85, 996 –1004
- O'Donnell, K., "Carbohydrate and intense sweeteners", *Chemistry and Technology of Soft drinks and Fruit juices problems solved*, P. R. Ashurst (ed.). Blackwell Publishing Ltd, 2005
- Pasin, G., Miller. S. L., *U.S. Whey Products and Sports Nutrition*. USDEC, 2000 (http://www.nationaldairycouncil.org/PortalCollectionDocuments/education_materials/whey_protein/WheySports.pdf)

- Palmer, Q., "Special Topic", Chemistry and Technology of Soft drinks and Fruit juices problems solved, P. R. Ashurst (ed.). Blackwell Publishing Ltd, 2005
- Paquin, P., "Preface", Functional and speciality beverage technology, P. Paquin (ed.). Woodhead Publishing Limited e CRC Press LLC, 2009
- Pelegrine, D.H.G., Gasparetto, C.A., 2005. Whey proteins solubility as function of temperature and pH. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.* 38, 77–80
- Poppitt, S. D., Proctor, J., McGill, A., Wiessing, K. R., Falk, S., Xin, L., Budgett, S. C., Darragh, A., Hall, R. S., 2011. Low-dose whey protein-enriched water beverages alter satiety in a study of overweight women. *Appetite* 56, 456–464
- Portaria n.º 703/96 de 6 de Dezembro (<http://dre.pt/pdf1sdip/1996/12/282B00/43874388.pdf>)
- PROBEB, 2011. Importância económica do sector (<http://www.probeb.pt/folder/paginaficheiro1/88V3%20-%20SECTOR.pdf>)
- Rau, A., Quinn, N., Stadolnik, D., Sterner, E., 2010. Effervescent tablets/granules. United States Patent Application Publication 2010/0034889 A1
- Regulamento (ce) n.º 1924/2006 do Parlamento Europeu e do Conselho de 20 de Dezembro de 2006 relativo às alegações nutricionais e de saúde sobre os alimentos
- Rittmanic, S., Burrington, K. J. "U.S. whey proteins in ready-to-drink beverages", USDEC, 2006
- Roethenbaugh, G., "Trends in beverage markets", Chemistry and Technology of Soft drinks and Fruit juices problems solved, P. R. Ashurst (ed.). Blackwell Publishing Ltd, 2005
- Russell, T.A., Drake, M.A., Gerard, P.D., 2006. Sensory Properties of Whey and Soy Proteins. *Journal of Food Science*, 71 (6), S447 - S455
- Russell, M., 2011. Just the Facts – *Datamonitor* International: The Global Soft Drinks Industry, Just – drinks (http://www.just-drinks.com/analysis/the-global-soft-drinks-industry_id103603.aspx)
- Sano, H., Egashira, T., Kinekawa, Y., Kitabatake, N., 2004. Astringency of Bovine Milk Whey Protein. *Journal of Dairy Science* 88 (7)
- Shacman, M., "Brix – The basics", *The Soft Drinks Companion: A Technical Handbook for the Beverage Industry*, CRC Press, 2005a
- Shacman, M., "Taste testing – Theory and practice", *The Soft Drinks Companion: A Technical Handbook for the Beverage Industry*, CRC Press, 2005b

Shacman, M., "Syrup Making – The Heart of the Process", *The Soft Drinks Companion: A Technical Handbook for the Beverage Industry*, CRC Press, 2005c

Snyder, B. S., Haub, M. D., "Whey, Casein, and Soy Proteins", *Sports nutrition: fats and proteins*, J. A. Driskell (ed.). CRC Press Taylor & Francis Group, 2007

Siró, I., Kápolna, E., Kápolna, B., Lugasi, 2008. A Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance - A review. *Appetite* 51, 456–467

Smithers, G. W., 2008. Whey and whey proteins—From 'gutter-to-gold'. *International Dairy Journal* 18, 695 – 704

Soft Drinks International, Janeiro de 2011 (http://www.softdrinksinternational.com/userfiles/file/SDIJAN11_web.pdf)

Sorenson, D., Bogue, J. "Consumer-oriented development of functional beverages", *Functional and speciality beverage technology*, Paul Paquin (ed.). Woodhead Publishing Limited e CRC Press LLC, 2009

Spano, M., 2010. "Trends in Sports Drink Formulations", *Prepared Food* (<http://www.preparedfoods.com/articles/108306-trends-in-sports-drink-formulations>)

Steen, D. P., "Carbon dioxide, carbonation and the principles of filling technology", *Carbonated Soft Drinks – Formulation and Manufacture*, D. P. Steen e P. R. Ashurst (ed.). Blackwell Publishing Ltd, 2006

Tallon, M. J. Key trends in nutraceutical food and drinks: Novel ingredients, new applications and future revenue opporyunities, *Business Insights Ltd*, 2007

Tang, J. E., Manolakos, J. J., Kujbida, G. W., Lysecki, P. J., Moore, D. R., Phillips, S. M., 2007. Minimal whey protein with carbohydrate stimulates muscle protein synthesis following resistance exercise in trained young men. *Appl. Physiol. Nutr. Metab.*, 32, 1132 – 1138

Tang, J. E., Moore, D. R., Kujbida, G. W., Tarnopolsky, M. A., Phillips, S. M., 2009. protein synthesis Ingestion of whey hydrolysate, casein, or soy protein isolate: effects on mixed muscle at rest and following resistance exercise in young men. *J Appl Physiol* 107, 987-992

Taylor, B., "Other beverage Ingredients", *Chemistry and Technology of Soft drinks and Fruit juices problems solved*, P. R. Ashurst (ed.). Blackwell Publishing Ltd, 2005

Taylor, B., "Ingredients and formulation of carbonated soft drinks", *Carbonated Soft Drinks – Formulation and Manufacture*, D. P. Steen e P. R. Ashurst (ed.). Blackwell Publishing Ltd, 2006

Walzem, R. L., Dillard, C. J., German, J. B., 2002. Whey Components: Millennia of Evolution Create Functionalities for Mammalian Nutrition: What We Know and What We May Be Overlooking. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 42(4), 353–375

Williams, L. A., "Sports nutrition going mainstream", Beverage Innovation - Digital sample copy, Maio de 2010 ([http://content.yudu.com/Library/A1o94s/Issue75%7CBeverageInno/resources/index.htm?referrerUrl=http%3A%2F%2Fwww.google.com%2Furl%3Fsa%3Dt%26source%3Dweb%26cd%3D1%26ved%3DCBoQFjAA%26url%3Dhttp%253A%252F%252Fcontent.yudu.com%252FLibrary%252FA1o94s%252FIssue75%25257CBeverageInno%252F%26rct%3Dj%26q%3Dbeverage%2520Innovation%2520may%25202010\)%2520digital%2520sampler%2520coy%26ei%3Dfi2TTrSrHYKXhQeEo8jjDw%26usg%3DAFQjCNFAZUyPY9I7AdhIGTDsSwq5X54a2A](http://content.yudu.com/Library/A1o94s/Issue75%7CBeverageInno/resources/index.htm?referrerUrl=http%3A%2F%2Fwww.google.com%2Furl%3Fsa%3Dt%26source%3Dweb%26cd%3D1%26ved%3DCBoQFjAA%26url%3Dhttp%253A%252F%252Fcontent.yudu.com%252FLibrary%252FA1o94s%252FIssue75%25257CBeverageInno%252F%26rct%3Dj%26q%3Dbeverage%2520Innovation%2520may%25202010)%2520digital%2520sampler%2520coy%26ei%3Dfi2TTrSrHYKXhQeEo8jjDw%26usg%3DAFQjCNFAZUyPY9I7AdhIGTDsSwq5X54a2A))

Whetstone, M .E. C., Croissant, A. E., Drake, M.A., 2005. Characterization of WPC80 and IPS flavor. *Journal Dairy Science* 88, 3826 - 3829

<http://www.probeb.pt/conteudo/?id=47> – Consultado em 30/09/2011

<http://www.probeb.pt/conteudo/?id=48> – Consultado em 30/09/2011

ANEXO II – Terminologia para descrever impressões de aroma/ gosto

Terminologia para descrever impressões de Aroma/Gosto		Águas, refrigerantes e sumos	
2000 Aroma 2009 Aroma Insuficiente 2100 Especiarias 2106 Baunilha 2107 Cravo da Índia 2108 Canela 2120 Químico 2121 Plástico 2122 Sintético 2123 Acetaldeído 2124 Hidrocarbonetos 2125 Verniz 2140 Frutos estranhos ao produto 2142 Maçã 2143 Banana 2144 Groselha preta 2145 Melão 2146 Pêra 2147 Framboesa 2148 Morango 2149 Ananás 2151 Damasco 2152 Pêssego 2153 Toranja 2154 Tangerina 2155 Lima 2156 Limão 2157 Laranja 2160 Flores 2163 Perfume 2180 Fresco 2190 Sintético 2191 Rebuçado 2192 Essência 2193 Casca fruta	2400 2410 Caramelo 2420 Torrado 2421 Fumo 2430 Aroma Doce 2440 Enjoativo 2500 Fenólico 2505 Iodofórmio 2508 Cloro 2509 Medicinal 2600 2610 Ácidos Gordos 2619 Sabão 2621 Queijo 2622 Butírico 2623 Gorduroso 2629 Soro leite 0503 Afénico 2610 Ranço 2639 Cêra 2640 Azeite 2641 a óleo 2650 A gato 2700 Enxofre 2710 Sulfitico 2720 Sulfídrico 2724 Luz 2726 Borracha queimada 2729 Cebola 2730 A mar 2721 Maresia 2132 Salmoura	2900 Ácido, Acre 2900 Ácido 2920 Acre 2929 Insuficiente Acre 2930 Alcóolico 2940 A pó 3000 Doce 3009 Doce insuficiente 3029 Doce Excessivo 3100 Salgado 2109 Salgado Insuficiente 2129 Salgado excessivo 3200 Amargo 3209 Amargo insuficiente 3229 Amargo excessivo 3300 3310 Alcalino 3330 Metálico 3340 Adstringente 3341 Seco 3360 Carbonatação 3361 Carbonatação insuficiente 3362 Sobrecarbonatado 3370 Queimado 3380 Picante 3381 Conservante	
	2200 Resina, Nozes, Verdura, Ervas 2210 Resina 2211 Madeira 2220 Nozes 2221 Noz 2222 Noz de coco 2223 Favas 2224 Amêndoas 2230 Ervas 2231 Erva recentemente cortada 2232 Tipo palha 2240 Verde 2250 Couro	2800 Envelhecimento 2800 Envelhecida 2825 Cartão 2826 Oxidação 2827 Velho 2829 Cozido 2830 2839 Sobrepasteurizado 2840 Mofo 2841 Terra 2842 Bolores	3400 Corpo 3410 Corpo 3411 Águado 3412 Sem características 3413 Equilibrado 3414 Pastoso/Puré 3479 Desequilibrado 3500 Cor 3501 Com cor 3502 Côr alterada

ANEXO III – Resultados das análises sensoriais

Tabela 9.1. - Resultados da análise sensorial efectuada pelo painel de afinção às formulações - base com os vários isolados.

Formulações - base (5% proteína)	Avaliação geral (média)	Classificação final	Comentários:
IPS 1	-0,17	<i>Satisfatória</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Cor amarela; - Agradável; - Falta acidez (frescura); - Ligeiramente adstringente (menos que o IPS5); - Falta aroma a limão.
IPS 2	-1	<i>Não suficientemente satisfatória</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Cor amarela; - Turva; - Agradável; - Ligeiramente adstringente (menos que o IPS5) ; - Aroma a leite; - Sabor aguado
IPS 3	-2,67	<i>Não satisfatória</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Muito turva; - Gosto e aroma desagradável; - Aroma a leite; - Muito ácida; - Adstringente.
IPS 4	-2	<i>Não satisfatória</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Cor amarela - Aroma a leite; - Muito ácida; - Adstringente.
IPS 5	-1	<i>Não suficientemente satisfatória</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Turva; - Cor amarela; - Aroma a leite; - Agradável; - Mais fresca; - Ligeiramente adstringente; - Falta aroma a limão.

Tabela 9.2 - Resultados da análise sensorial efectuada á formulação A₁ pelo painel de provadores de afinação.

Formulações 2% PSL	Avaliação geral (média)	Classificação final	Comentários
A ₁ Limão - aroma modulador ₁	-0,33	Satisfatória	- Ligeira adstringência; - Ligeiro aroma a lacticínios; - Falta aroma a limão; - Mais doce e aroma a baunilha.
A ₁ Limão (aroma alternativo)	-0,67	Satisfatória	- Aroma a lacticínios e desagradável; - Doce.
A ₁ Laranja	0,00	Satisfatória	- Mais doce; - Falta ligeiramente sabor cítrico; - Mais agradável.
A ₁ Tangerina	0,17	Satisfatória	- Agradável; - Doce; - Sabor/aroma pouco cítrico.
A ₁ Ananás – Coco	-0,33	Satisfatória	- Falta sabor a ananás; - Agradável; - Doce.

Tabela 9.3 - Resultados da análise sensorial efectuada á formulação A₂ pelo painel de provadores de afinação.

Formulações 2% PSL	Avaliação geral (média)	Classificação final	Comentários
A ₂ Limão	0,00	Satisfatória	- Agradável - Ligeiramente adstringente - Ligeiramente amargo
A ₂ Limão - aroma modulador ₁	- 1	Não suficientemente satisfatória	- Aroma intenso a baunilha - Mais adstringente
A ₂ Limão - aroma modulador ₂	0,25	Satisfatória	- Agradável - Menor adstringência
A ₂ Laranja	0,25	Satisfatória	
A ₂ Laranja - aroma modulador ₂	- 0,5	Satisfatória	- Aroma/sabor à baunilha.
A ₂ Tangerina	0,25	Satisfatória	- Agradável - Ligeiramente adstringente
A ₂ Tangerina - aroma modulador ₂	0,00	Satisfatória	- Aroma ligeiro a baunilha - Ligeiramente adstringente.
A ₂ Ananás - coco	0,25	Satisfatória	- Demasiado aroma a coco - Ligeiramente amargo

Tabela 9.4 - Resultados da análise sensorial efectuada á formulação B₁ pelo painel de provadores de afinção.

Formulações 2% PSL	Avaliação geral (média)	Classificação final	Comentários
B ₁ Limão	0,00	Satisfatória	<ul style="list-style-type: none"> - Mais aguado - mais refrescante - falta doçura - mais cor
B ₁ Limão - aroma modulador ₁	- 1,00	Não suficientemente satisfatória	<ul style="list-style-type: none"> - Sabor lácteo - Sabor à baunilha
B ₁ Limão - aroma modulador ₂	- 1,00	Não suficientemente satisfatória	<ul style="list-style-type: none"> - Sabor lácteo - Sabor à baunilha
B ₁ Laranja	- 0,5	Satisfatória	<ul style="list-style-type: none"> - Mais cor - Falta doçura
B ₁ Laranja - aroma modulador ₂	- 1,00	Não suficientemente satisfatória	<ul style="list-style-type: none"> - Mais cor - Falta doçura - Ligeira adstringência
B ₁ Tangerina	- 1,00	Não suficientemente satisfatória	<ul style="list-style-type: none"> - Mais cor - Falta doçura
B ₁ Tangerina - aroma modulador ₂	- 1,00	Não suficientemente satisfatória	<ul style="list-style-type: none"> - Mais cor - Falta doçura
B ₁ Ananás - coco	- 0,5	Satisfatória	<ul style="list-style-type: none"> - Cor - Ligeiramente ácido - Agradável

Tabela 9.5 - Resultados da análise sensorial efectuada á formulação C₁ pelo painel de provadores de afinação.

Formulações 2% PSL	Avaliação geral (média)	Classificação final	Comentários
C ₁ Limão	- 1,00	<i>Não suficientemente satisfatória</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Aroma lácteo - Ligeiramente ácido - Menos doce e aguado - Menos doce e aguado - Agradável
C ₁ Limão - aroma modulador ₁	- 1,00	<i>Não suficientemente satisfatória</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Aroma a baunilha - Ligeiramente adstringente - Aguado
C ₁ Limão - aroma modulador ₂	- 1,00	<i>Não suficientemente satisfatória</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Menos doce e aguado - Agradável
C ₁ Laranja	- 1,00	<i>Não suficientemente satisfatória</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Falta doçura - Ligeira adstringência - Aguada
C ₁ Laranja - aroma modulador ₂	- 1,00	<i>Não suficientemente satisfatória</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Falta doçura - Ligeira adstringência - Aguada
C ₁ Tangerina	- 1,00	<i>Não suficientemente satisfatória</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Falta doçura
C ₁ Tangerina - aroma modulador ₂	- 1,00	<i>Não suficientemente satisfatória</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Falta doçura
C ₁ Ananás - coco	- 1,00	<i>Não suficientemente satisfatória</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Demasiado aroma a coco - Falta doçura - Mais ácido.

Tabela 9.6 - Resultados da análise sensorial efectuada á formulação A₂ pelo painel de provadores oficial.

Formulações 2% PSL	Avaliação geral (média)	Classificação final	Comentários
A ₂ Limão - aroma modulador ₂	- 1,00	<i>Não suficientemente satisfatória</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Aroma e sabor a baunilha. - Falta limão. - Doce. - Adstringente. - Ácidos gordos. - Acrilamida. - Químico.
A ₂ Laranja	- 0,2	<i>Satisfatória</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Aroma estranho de laranja. - Ligeiramente amargo. - Adstringente. - Aguado. - Sem características. - Melhor aroma.
A ₂ Tangerina	- 0,4	<i>Satisfatória</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Produto mais turvo. - Agradável. - Sabor mais fresco e refrescante. - Falta aroma a tangerina.
A ₂ Ananás - coco	- 0,2	<i>Satisfatória</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Muito aroma a coco. - Ligeiramente amarga. - Falta ananás. - Tem cor e está turvo. - Agradável. - Azedo. - Ananás sintético e forte. - Desequilibrado

Tabela 9.7 - Resultados da análise sensorial efectuada á formulação A₂, A₃ e A₄ pelo painel de provadores oficial.

Formulações 2% PSL	Avaliação geral (média)	Classificação final	Comentários
A ₂ Limão - aroma modulador ₂	- 1,80	Não satisfatória	<ul style="list-style-type: none"> - Aroma de limão oxidado. - Muito doce. - Pouca acidez. - Bebida mais salina. - Envelhecida. - Pastosa
A ₃ Limão - aroma modulador ₂	- 1,5	Não satisfatória	<ul style="list-style-type: none"> - Aroma pouco fresco e oxidado. - Envelhecido. - Bebida muito doce. - Cor amarela. - Pouca acidez. - Mais aguada
A ₂ Laranja	- 0,8	Satisfatória	<ul style="list-style-type: none"> - Salgado excessivo. - Desequilibrado. - Cor alterada
A ₃ Laranja	- 1,00	Não suficientemente satisfatória	<ul style="list-style-type: none"> - Doce excessivo. - Salgado excessivo. - Aguado. - Desequilibrado. - Cor alterada.
A ₄ Laranja	- 1,6	Não satisfatória	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Doce excessivo. ▪ Aroma insuficiente. ▪ Aguado. ▪ Desequilibrado. ▪ Cor alterada.
A ₂ Tangerina	- 1,00	Não suficientemente satisfatória	<ul style="list-style-type: none"> - Cor amarela pouco intensa. - Muito doce. - Desequilibrada. - Mais aguada que a anterior. - Aroma oxidado. - Mais ácida
A ₃ Tangerina	- 1,00	Não suficientemente satisfatória	<ul style="list-style-type: none"> - Cor mais amarela que a anterior. - Aroma mais intenso a tangerina. - Desequilibrada. - Melhor aroma
A ₂ Ananás - coco	- 0,2	Satisfatória	<ul style="list-style-type: none"> - Amargo. - Doce excessivo.
A ₃ Ananás - coco	- 0,4	Satisfatória	<ul style="list-style-type: none"> - Amargo. - Doce excessivo.

Tabela 9.8. - Resultados da análise sensorial efectuada á formulação A⁺₁ pelo painel de afinação.

Formulações com 5% PSL	Avaliação geral (média)	Classificação final	Comentários
A ⁺ ₁ Limão	-1,00	<i>Não suficientemente satisfatória</i>	- Produto com cor; - Aroma a lacticínios.
A ⁺ ₁ Limão - aroma modulador ₁	-1,00	<i>Não suficientemente satisfatória</i>	- Ligeiro aroma a baunilha; - Adstringente; - Aroma mais desagradável; - Cor mais amarela.
A ⁺ ₁ Limão - aroma modulador ₂	-0,33	<i>Satisfatória</i>	- Produto de cor amarela; - Sabor agradável; - Maior sabor a sumo de limão.
A ⁺ ₁ Laranja	-1,00	<i>Não suficientemente satisfatória</i>	- Produto com cor; - Sabor adstringente.
A ⁺ ₁ Tangerina	-0,67	<i>Satisfatória</i>	- Mais Agradável; - Produto com cor; - Ligeiramente adstringente.
A ⁺ ₁ Ananás - Coco	-1,00	<i>Não suficientemente satisfatória</i>	- Produto com cor; - Falta coco no aroma; - Ligeiro amargor; - Adstringente; - Ácida.

Tabela 9.9 - Resultados da análise sensorial efectuada á formulação A⁺₃ pelo painel de afinação.

Formulações com 5% PSL	Avaliação geral (média)	Classificação final	Comentários
A ⁺ ₃ Limão - aroma modulador ₂	- 1,00	<i>Não suficientemente satisfatória</i>	- Aroma lácteo; - Aroma a baunilha; - Ligeiramente adstringente; - Cor.
A ⁺ ₃ Laranja	- 1,00	<i>Não suficientemente satisfatória</i>	- Aroma lácteo; - Adstringente; - Cor.
A ⁺ ₃ Tangerina	- 1,00	<i>Não suficientemente satisfatória</i>	- Adstringente; - Cor
A ⁺ ₃ Ananás – Coco	- 1,00	<i>Não suficientemente satisfatória</i>	- Agradável; - Adstringente; - Cor

Tabela 9.10 - Resultados da análise sensorial efectuada á formulação B⁺₃ pelo painel de afinação.

Formulações com 5% PSL	Avaliação geral (média)	Classificação final	Comentários
B ⁺ ₃ Limão - aroma modulador ₂	- 1,00	<i>Não suficientemente satisfatória</i>	- Aroma lácteo - Aroma a baunilha - Muito doce - Mais agradável - Cor
B ⁺ ₃ Laranja	- 1,00	<i>Não suficientemente satisfatória</i>	- Muito doce - Adstringente - Cor
B ⁺ ₃ Tangerina	- 1,00	<i>Não suficientemente satisfatória</i>	- Muito doce - Adstringente - Cor
B ⁺ ₃ Ananás – Coco	- 1,00	<i>Não suficientemente satisfatória</i>	- Muito doce - Adstringente - Cor

Tabela 9.11 - Resultados da análise sensorial efectuada á formulação C⁺₃ pelo painel de afinação.

Formulações (5% PSL)	Avaliação geral (média)	Classificação final	Comentários
C ⁺ ₃ Limão - aroma modulador ₂	- 1,00	<i>Não suficientemente satisfatória</i>	- Aroma lácteo - Aroma a baunilha - Muito doce e com cor - Mais agradável - Cor
C ⁺ ₃ Laranja	- 1,00	<i>Não suficientemente satisfatória</i>	- Muito doce - Adstringente - Cor
C ⁺ ₃ Tangerina	- 1,00	<i>Não suficientemente satisfatória</i>	- Muito doce - Adstringente - Cor
C ⁺ ₃ Ananás – Coco	- 1,00	<i>Não suficientemente satisfatória</i>	- Muito doce - Adstringente - Cor

Tabela 9.12 - Resultados da avaliação sensorial das amostras do ensaio de estabilidade sujeitas à temperatura de 27°C.

		Avaliação geral (média)	Classificação final	Comentários
Produto fresco		0,00	<i>Satisfatória</i>	
27 °C	Semana 1	0,00	<i>Satisfatória</i>	- Adstringente
	Semana 2	0,00	<i>Satisfatória</i>	
	Semana 3	- 1,00	<i>Satisfatória</i>	- Adstringente
	Semana 4	- 0,2	<i>Satisfatória</i>	- Adstringente - Aguada - Pouco aroma

Tabela 9.13 - Resultados da avaliação sensorial das amostras do ensaio de estabilidade sujeitas à temperatura de 37°C.

		Avaliação geral (média)	Classificação final	Comentários
Produto fresco		- 0,6	<i>Satisfatória</i>	- Oxidação - Acre - Ácida - Sem aroma
37 °C	Semana 1	- 0,6	<i>Não suficientemente satisfatória</i>	- Oxidação - Adstringente - Sem aroma
	Semana 2	- 1,40	<i>Não suficientemente satisfatória</i>	- Oxidação - Cor - Amarga - Sem aroma - Mau sabor
	Semana 3	- 1,80	<i>Não suficientemente satisfatória</i>	- Oxidada - Com cor - Cartão - Sem aroma - Cozido - Mau sabor
	Semana 4	- 2,20	<i>Não satisfatória</i>	- Oxidada - Com cor - Sem aroma - Amarga - Cozido - Mau aroma e sabor

Tabela 9.14 - Resultados da avaliação sensorial das amostras do ensaio de estabilidade sujeitas à temperatura de 47°C.

		Avaliação geral (média)	Classificação final	Comentários
Produto fresco		0,00	Satisfatória	
47 °C	Semana 1	- 1,40	Não suficientemente satisfatório	<ul style="list-style-type: none"> - Oxidação - Cozido - Sem características - Aguado - Com cor - Sem aroma - Mau sabor - Enjoativo
	Semana 2	- 2,20	Não satisfatório	<ul style="list-style-type: none"> - Oxidação - Soro de leite - Sem características - Velha - Com cor - Sem aroma - Amargo - Mau sabor
	Semana 3	- 2,60	Não satisfatório	<ul style="list-style-type: none"> - Oxidação - Soro de leite - Desequilibrada - Velha - Muita cor - Sem aroma - Mau sabor
	Semana 4	- 3,0	Não satisfatório	<ul style="list-style-type: none"> - Oxidação - Soro de leite - Velha - Esgoto - Alterada - Sem aroma - Mau sabor